



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HAKKARİ'DE YETİŞEN BAZI BİTKİLERİN TOPLAM FENOLİK
BİLEŞEN İÇERİKLERİNİN VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

SULTAN ÜLGER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. SERPİL UĞRAŞ**

DÜZCE, 2017

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HAKKARİ'DE YETİŞEN BAZI BİTKİLERİN TOPLAM FENOLİK
BİLEŞEN İÇERİKLERİNİN VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

Sultan ÜLGER tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ

Düzce Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Ersin ORHAN

Düzce Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr.Ümran ALAN

Bülent Ecevit Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 21/07/2017

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

21 Temmuz 2017

Sultan Ülger

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ'a en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca değerli katkılarını esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ'a da şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve yardımlarından dolayı arkadaşlarım Elif Sine AKSOY, Ayşe UZUN, Şebnem ÜZMEZ, Ertuğrul KAYA, Pınar AYDIN ve Merve CAN'a, ayrıca bitkilerin temin edilmesini sağlayan Hacer DURSUN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

21 Temmuz 2017

Sultan Ülger

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
BEYAN.....	III
ŞEKİL LİSTESİ.....	V
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VI
KISALTMALAR.....	VII
SİMGELER	IX
ÖZET	X
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ.....	1
1.1. BİTKİLERİN TEDAVİ AMAÇLI KULLANIMI	1
1.2. BİTKİSEL EKSTRAKSİYON	2
1.3. BİTKİLERİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ.....	3
1.3.1. Antimikrobiyal Aktivite Analizlerinde Kullanılan Yöntemler.....	3
1.3.1.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi.....	3
1.3.1.2. Agar Kuyu Difüzyon Yöntemi	3
1.3.2. Bitkilerin Antimikrobiyal Etkileri ile İlgili Bazı Çalışmalar	4
1.4. BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ	7
1.4.1. Antioksidanlar.....	7
1.4.2. Serbest Radikaller.....	8
1.4.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Arasındaki İlişki	11
1.4.4. Antioksidan Kapasite Analizlerinde Kullanılan Yöntemler	12
1.4.4.1. DPPH Radikal Giderme Kapasite Analizi.....	13
1.4.4.2. ABTS Radikal Giderme Kapasite Analizi	14
1.4.5. Bitkilerin Antioksidan Etkileri ile İlgili Bazı Çalışmalar	15
1.5. BİTKİLERİN TOPLAM FENOLİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ.....	19
1.5.1. Folin-Ciocalteu Metodu ile Toplam Fenolik Bileşen İçeriklerinin Belirlenmesi	19
1.5.2. Bitkilerin Fenolik Bileşen İçerikleri ile İlgili Bazı Çalışmalar	20

1.6. ÇALIŞMANIN AMACI	22
2. MATERYAL VE YÖNTEM	23
2.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN BİTKİ ÖRNEKLERİ.....	23
2.1.1. <i>Arum</i> sp. (Kari)	23
2.1.2. <i>Diplotaenia</i> sp. (Siyabo)	23
2.1.3. <i>Chaerophyllum</i> sp. (Mende)	24
2.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN MİKROORGANİZMALAR	24
2.3. BİTKİ EKSTRAKTLARININ HAZIRLANMASI	26
2.4. EKSTRAKTLARIN YÜZDE VERİM HESABI.....	26
2.5. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ	26
2.6. ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ.....	27
2.6.1. DPPH Radikali Giderme Aktivitesi	27
2.6.2. ABTS Radikali Giderme Aktivitesi.....	27
2.7. TOPLAM FENOLİK BİLEŞEN ANALİZİ	28
3. BULGULAR	30
3.1. EKSTRAKTLARIN YÜZDE VERİMLERİ.....	30
3.2. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE ANALİZİ	31
3.3. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ANALİZİ.....	40
3.3.1. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi	40
3.3.2. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi.....	41
3.4. TOPLAM FENOLİK BİLEŞEN ANALİZİ	42
3.4.1. Folin-Ciocalteu Ayırıcı (FCR) ile Toplam Fenolik Bileşen Analizi.....	42
4. TARTIŞMA.....	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
6. KAYNAKLAR.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	59

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. <i>Arum</i> sp. (Kari).	23
Şekil 2.2. <i>Diplotaenia</i> sp. (Siyabo).	24
Şekil 2.3. <i>Chaerophyllum</i> sp. (Mende).	24
Şekil 2.4. Gallik asit standardının absorbands grafiği.	28
Şekil 3.1. Etanol ekstraktlarının <i>P. vulgaris</i> 'e karşı inhibisyon aktivitesi.	36
Şekil 3.2. Etanol ekstraktlarının <i>Y. pseudotuberculosis</i> 'e karşı inibisyon aktivitesi.	36
Şekil 3.3. Etanol ekstraktlarının <i>E. coli</i> 'ye karşı inibisyon aktivitesi.	36
Şekil 3.4. Etanol ekstraktlarının <i>E. cloaceae</i> 'ye karşı inhibisyon aktivitesi.	37
Şekil 3.5. Etanol ekstraktlarının <i>S. typhimurium</i> 'a karşı inhibisyon aktivitesi.	37
Şekil 3.6. Etanol ekstraktlarının <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı inhibisyon aktivitesi.	37
Şekil 3.7. Etanol ekstraktlarının <i>K. pneumoniae</i> 'ye karşı inhibisyon aktivitesi.	38
Şekil 3.8. Aseton ekstraktlarının <i>K. pneumoniae</i> 'ye karşı inhibisyon aktivitesi.	38
Şekil 3.9. Aseton ekstraktlarının <i>C. albicans</i> 'a karşı inhibisyon aktivitesi.	38
Şekil 3.10. Aseton ekstraktlarının <i>P. vulgaris</i> 'e karşı inhibisyon aktivitesi.	39
Şekil 3.11. Aseton ekstraktlarının <i>E. cloaceae</i> 'ye karşı inhibisyon aktivitesi.	39
Şekil 3.12. Aseton ekstraktlarının <i>B. subtilis</i> 'e karşı inhibisyon aktivitesi.	39
Şekil 3.13. Bitki ekstraktlarının ve standardın DPPH radikal giderme aktiviteleri.	40
Şekil 3.14. Bitki ekstraktlarının ve standardın ABTS radikal giderme aktiviteleri.	41

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1.1. ROS listesi.	8
Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve bazı özellikleri.	25
Çizelge 3.1. Bitki ekstraktlarının yüzde verim değerleri.	30
Çizelge 3.2. <i>Arum</i> sp. bitki ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine etkisi.....	32
Çizelge 3.3. <i>Diplotaenia</i> sp. bitki ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine etkisi.	33
Çizelge 3.4. <i>Chaerophyllum</i> sp. bitki ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine etkisi.	35
Çizelge 3.5. Bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşen miktarlarının gallik asit ekivalenti olarak değerlendirilmesi.	43

KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	2,2-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6sülfonik asit)
AOA	Antioksidan aktivite
AOK	Antioksidan kapasite
AspA	<i>Arum</i> sp. aseton ekstraktı
AspE	<i>Arum</i> sp. etanol ekstraktı
AspH	<i>Arum</i> sp. hekzan ekstraktı
ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
ATP	Adenozin trifosfat
BHA	Bütillendirilmiş hidroksianisol
BHT	Bütillendirilmiş hidroksitoluen
CAT	Katalaz
CFU	Koloni Oluşturma Birimi
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CspA	<i>Chaerophyllum</i> sp. aseton ekstraktı
CspE	<i>Chaerophyllum</i> sp. etanol ekstraktı
CspH	<i>Chaerophyllum</i> sp. hekzan ekstraktı
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DPPH	2,2- difenil-1-pikrilhidrazil
DspA	<i>Diplotaenia</i> sp. aseton ekstraktı
DspE	<i>Diplotaenia</i> sp. etanol ekstraktı
DspH	<i>Diplotaenia</i> sp. hekzan ekstraktı
ET	Elektron transfer
FCR	Folin- Ciocalteu reaktifi
FRAP	Ferrik indirgeyici antioksidan güç
FTC	Ferrik tiyosiyanat
GAE	Gallik asit ekivalenti
GC-MS	Gaz kromatografisi- kütle spektrometresi
GP-x	Gulutasyon peroksidaz
GSH	Glutatyon
HAT	Hidrojen atomu transfer
HOCl	Hipoklorür
IC ₅₀	Yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu
İNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
MHA	Muller Hinton Agar
MHB	Muller Hinton Broth
M.Ö.	Milattan önce
MPO	Miyeloperoksidaz
M.S.	Milattan sonra
NA	Nütrient Agar
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat hidrojen
NB	Nütrient Broth

NK	Negatif kontrol
NO•	Nitrik oksit
ONOO ⁻	Peroksinitrit
ORAC	Oksijen radikallerinin soğurma kapasitesi
PK	Pozitif kontrol
RNS	Reaktif azot türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TAC	Toplam antioksidan kapasitesi
TBA	Tiyobarbitürik asit
TFC	Toplam flavonoid içeriği
TPC	Toplam fenolik içerik
TRAP	Toplam radikal antioksidan parametresi
UV	Ultraviyole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü



SİMGELER

A	Absorbans değeri
α	Alfa
β	Beta
cm	Santimetre
Δ	Delta
Λ	Lamda
°C	Santigrat derece
μ g	Mikrogram
μ l	Mikrolitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
ml	Mililitre
nm	Nanometre
rpm	Dakika başına devrim
w	Ağırlık
%	Yüzde

ÖZET

HAKKARİ'DE YETİŞEN BAZI BİTKİLERİN TOPLAM FENOLİK BİLEŞEN İÇERİKLERİNİN VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Sultan ÜLGER
Düzce Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ
Temmuz 2017, 58 sayfa

Hakkari ilinde yabani olarak yetişen *Arum* sp. (Kari), *Diplotaenia* sp. (Siyabo) ve *Chaerophyllum* sp. (Mende) uzun yıllardır halk için besin kaynağı olmasının yanında çok önemli bir tedavi kaynağı olmuştur. Bu çalışmada, bu bitkilerin başta hekzan olmak üzere sırasıyla etanol ve aseton çözeltileri kullanılarak aşamalı ekstraksiyonu, ekstrakt % verimleri, bitki ekstraktlarının antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite ve toplam fenolik madde içerik analizleri gerçekleştirildi. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite analizleri 13 farklı test mikroorganizması kullanılarak agar kuyu difüzyon yöntemi ile yapıldı. Bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde DPPH ve ABTS radikal giderme analizi olmak üzere iki farklı analiz yöntemi kullanıldı. Toplam fenolik bileşen içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak belirlendi ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak değerlendirildi. Çalışma sonucunda, en yüksek ekstrakt veriminin *Arum* sp. bitkisinin etanol ekstraktında (% 10,4011) olduğu, en düşük verimin ise, *Diplotaenia* sp. bitkisinin aseton ekstraktında (% 0,3253) olduğu belirlendi. Ardından, bitki ekstraktlarının birçok test mikroorganizmasına karşı yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Özellikle *Diplotaenia* sp. bitkisinin etanol ekstraktlarının hem aktivite spektrumunun geniş hem de en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Yapılan antioksidan aktivite analizleri sonucunda, *Diplotaenia* sp. bitkisinin etanol ekstraktının en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği, *Chaerophyllum* sp. bitkisinin hekzan ekstraktının ise en düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Diğer bitki ekstraktlarının ise iyi derecede antioksidan aktiviteye sahip oldukları tespit edildi. Toplam fenolik içerikleri açısından değerlendirildiğinde, en yüksek fenol içeriğinin *Diplotaenia* sp. ($55,36 \pm 0,035$ µg/ml) en düşük fenol içeriğinin ise *Chaerophyllum* sp. ($3,47 \pm 0,001$ µg/ml) bitki ekstraktının sahip olduğu tespit edildi. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, doğal ve yaygın olarak yetişen üç bitki, özellikle halk arasında Siyabo olarak bilinen yüksek biyolojik aktiviteye sahip *Diplotaenia* sp. ile ilgili yapılacak farmakolojik çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: *Arum* sp., Biyolojik aktivite, *Chaerophyllum* sp., *Diplotaenia* sp., Fenolik bileşen analizi.

ABSTRACT

DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC CONTENTS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME PLANTS GROWING IN HAKKARI

Sultan ULGER

Düzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Chemistry

Master Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Serpil UGRAS

July 2017, 58 pages

Arum sp. (Kari), *Diplotaenia* sp. (Siyabo) and *Chaerophyllum* sp. (Mende) plants that grow wild in Hakkari province are a very important source of treatment besides being a food source for the people for many years. In this study, phased extraction, extract % yields, antioxidant activity of plant extracts, antimicrobial activity and total phenolic content analysis of these plants were carried out using ethanol and acetone solutions, respectively, especially hexane. Analyses of antimicrobial activity of plant extracts were carried out by agar well diffusion method using 13 different test microorganisms. Two different analytical methods as DPPH and ABTS radical elimination analysis were used to determine antioxidant activities of plant extracts. The total phenolic component contents were determined using Folin-Ciocalteu reagent and the results were evaluated as gallic acid equivalent. As a result of the study, it was determined that the highest extract yield was in the extract of *Arum* sp. in ethanol (10,4011 %) and the lowest yield was in the extract of *Diplotaenia* sp. in acetone (0,3253 %). Subsequently, plant extracts were found to have high antimicrobial activity against many tested microorganisms. Especially, ethanol extract of *Diplotaenia* sp. was found to have broad spectrum of activity spectrum and highest antimicrobial activity. As a result of the antioxidant activity analyzes, the ethanol extract of *Diplotaenia* sp. showed the highest antioxidant activity and the hexane extract of *Chaerophyllum* sp. had the lowest antioxidant activity. Other plant extracts were found to have good antioxidant activity. It was determined that the highest phenol content was *Diplotaenia* sp. (55.36 ± 0.035 µg/ml) and the lowest phenol content was *Chaerophyllum* sp. (3.47 ± 0.001 µg/ml) plant extracts when evaluated in terms of total phenolic contents. As a result of this study, it is thought that the obtained data will shed light on the pharmacological studies about the natural and widely grown three plants, especially *Diplotaenia* sp. known as Siyabo that has high biological activity.

Keywords: *Arum* sp., Biological activity, *Chaerophyllum* sp., *Diplotaenia* sp., Phenolic component analysis.

1. GİRİŞ

1.1. BİTKİLERİN TEDAVİ AMAÇLI KULLANIMI

İlk insandan itibaren, yaşanan hastalıklara karşı çözüm yolları aranmaya başlanmıştır. Başlangıçta iç güdüsel olarak bulunan çözümler zamanla ekolojik ve biyotik faktörlerden yararlanılarak geliştirilmiştir [1]. Tarih öncesi çağlardan beri, insanlar hastalıkları hafifletmek ve tedavi etmek için, bitkiler, hayvanlar, mikroorganizmalar ve deniz organizmaları gibi doğal ürünleri kullanmıştır [2].

Hastalıkların tedavisinde bitkilerin kullanımı, insanlık kadar eskidir [3]. Fosil kayıtlarına göre, insanların ilaç olarak bitkileri kullanmaları en az 60.000 yıl öncesine dayanmaktadır [2]. Bu konudaki eserlere bakıldığında, bitkilerin terapötik kullanımının, M.Ö. 5000-4000 yıllarına kadar uzandığı ve Çinlilerin ilaç olarak öncelikle doğal bitkisel preparatlardan yararlandıkları görülmektedir [4]. Hindistan'da yazılmış olan Rig-Veda adlı eserin, M.Ö. 4500-1600 yılları arasında insanoğlunun bitkilerin tıbbi kullanımı hakkındaki geleneksel bilgisinin en eski kaynağı olduğu düşünülmektedir [5]. M.Ö. 16. yüzyılda 700 tıbbi formül içeren Ebers papirüsleri tıbbi bitkilerin hastalıklara karşı tedavi edici olarak kullanılması ile ilgili en eski referanslardan biridir [6]. Hipokrat'dan aldığı bilgilerle Galenos'un ve M.S. 1. yüzyılda Anadolu'da yaşamış olan Dioscorides'in eserlerinde yer alan bazı bitkilere ve onların kullanım şekillerine bugün de rastlanılmaktadır [7].

Doğal ürünler hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde dünya çapında önemli bir rol oynamıştır [4]. Sistematikçilerin bildirilerine göre dünya üzerinde 750.000-1.000.000 arasında bitki türü bulunmaktadır ve bu bitkilerden ortalama 500.000 kadarı tanımlanmıştır [1]. İnsanlar ve diğer hayvanlar tarafından gıda olarak kullanılan bitki türü ise sadece % 1-10 arasındadır [3]. Bitkilerin gıda olarak kullanılabilmesi insanları bitkilerden yararlanmaya itmiştir [1]. Geleneksel bitkisel ilaçlar ve hazırlıkları, doğal kökenleri ve daha az yan etkileri nedeniyle gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde binlerce yıldır yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [8].

Tüm dünyada, özellikle Güney Amerika ülkelerinde, temel sağlık hizmetlerinde tıbbi bitkilerin kullanımı önemli ölçüde desteklenmektedir [3]. Dünya Sağlık Örgütü'nün

(WHO) 1999 yılı raporlarına göre, gelişmekte olan ülkelerde nüfusun % 80'i temel sağlık problemlerinde çoğunlukla bitkisel kökenli ilaçlara güvenmektedirler [9]. Gelişmiş ülkelerde % 60, gelişmekte olan ülkelerde ise % 4 civarında doğal kaynaklı ilaçlardan yararlanılır [1].

İlacın insan vücuduna etki mekanizmalarının, ilaç molekülünün biyolojik makromoleküller ile spesifik etkileşimleri şeklinde olduğunu düşünen bilim adamları, bitki ekstraktlarında özgün kimyasal bileşiklerin var olduğu sonucuna varmıştır. Bu düşünce farmakolojide yeni bir çağın başlangıcıdır ve doğal ürünlerden izole edilmiş saf kimyasallar, hastalıkların standart tedavilerinde kullanılmaktadır [10]. Doğal rnlerin etkinlikleri; moleküler hedeflerin etkinliği ve seçiciliği açısından birçok avantaj sağlayan iyi düzenlenmiş üç boyutlu kimyasal ve sterik özelliklerin karmaşıklığına bağlıdır [2]. Modern anlamda farmakolojik olarak üretilen ilaçların etken maddelerinin en az % 25'i bitkilerden elde edilmektedir. Ayrıca, sentetik olarak üretilen birçok ilacın etken maddeleri de ilk defa bitkilerden izole edilen kimyasalların yapı benzerleridir. İlaç elde edilen bitkilere olan talep; düşük maliyetli olması, yan etkilerinin olmaması, toksik etkilerin azlığı ve doğal olarak üretilmiş olmasından dolayı hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde artış göstermektedir [9]. Geleneksel olarak kullanılan tıbbi bitkiler, tanenler, terpenoidler, alkaloidler, flavonoidler, fenoller ve kinonlar gibi çok çeşitli ikincil metabolit içerir ve birçok terapötik özelliklere sahiptir [11].

1.2. BİTKİSEL EKSTRAKSİYON

Ekstraksiyon sıvı çözücü ile katı veya sıvı karışımdan atık madde veya aktif ajanların çekilmesi işlemi olarak tanımlanmaktadır [12]. Ekstraksiyon terimi farmasötik olarak kullanıldığı gibi, bitki veya hayvan dokularının ilaç aktif kısımlarının seçici çözücüler kullanılması ile inaktif veya inert bileşenlerden sağlaştırılmasını da içermektedir [13].

Tıbbi bitkilerin incelenmesindeki ilk aşama, ekstraksiyon öncesinde bitkilerdeki biyomoleküllerin korunması için bitki örneklerinin hazırlanmasıdır. Ekstraksiyon yaprak, kabuk, kök, meyve ve iek gibi bitki örneklerinin taze veya kurutularak kullanılması ile yapılabilmektedir. Ekstraksiyon işlemlerinde fitokimyasalların korunması oldukça önemlidir [14]. Aynı zamanda, kurutulmuş bitki malzemelerinin artan yüzey alanı, ekstraksiyon işleminin performansını arttırmaktadır [15].

1.3. BİTKİLERİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ

Bitkilerin mikroorganizmaları öldürdüğüne dair yapılan araştırmalara 1926 yılında başlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda doğada kendiliğinden yetişen bitkilerin ekstraktlarının ve esansiyel yağlarının bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. WHO'nun 1999 yılı raporlarına göre bu alanda 20.000 kadar bitki tedavi amacıyla kullanılmaktadır [16].

1.3.1. Antimikrobiyal Aktivite Analizlerinde Kullanılan Yöntemler

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, modern biyoloji biliminde önemli bir tekniktir. Bazı mikrobik suşların farklı antimikrobik maddelere karşı direncini belirlemek için patolojide, farmakoloji araştırmalarında, biyolojik ekstraktan farklı mikroorganizmalara karşı yeni antimikrobiyallerin etkililiğinin belirlenmesinde kullanılır [17]. Antimikrobiyal duyarlılık testleri, difüzyon ve seyreltme yöntemleri olarak ikiye ayrılabilir. Seyreltme yöntemleri arasında agar seyreltmesi ve broth mikro veya makrodilüsyon bulunurken, yaygın difüzyon testleri; agar kuyu difüzyonu, agar disk difüzyonu ve biyootografidir [18]. Agar kuyu difüzyonu ve Agar disk difüzyonu bu yöntemler arasında en sık kullanılan yöntemleridir.

1.3.1.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi

Birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan ve rutin antimikrobiyal yatkınlık testi olan agar disk difüzyon yöntemi 1940'da geliştirilmiştir. Günümüzde, kabul edilmiş ve onaylanmış standartlar, bakteri ve maya testleri için Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından yayınlanmıştır [19]. Disk difüzyon duyarlılığı yöntemi basit ve iyi standardize edilmiş pratik bir yöntemdir [20]. Bu prosedürde, agar plakaları, test mikroorganizmasının standart aşılması ile inoküle edilir. Ardından istenen konsantrasyonda test bileşiği içeren kağıt diskler (yaklaşık 6 mm çapında) [19] ve sabit konsantrasyonlu antibiyotik aşılansız kağıt diskler agar yüzeyine yerleştirilir [20]. Petriler uygun koşullar altında inkübe edilir [19]. İnkübasyon işleminden sonra bölge çapı, % 80 büyüme olduğu zaman ölçülür [17].

1.3.1.2. Agar Kuyu Difüzyon Yöntemi

Agar kuyu difüzyon yöntemi, bitkilerin veya mikrobik özlerin antimikrobiyal aktivitesini değerlendirilmesinde kullanılır [19]. Agar disk difüzyon yöntemi ile benzerdir [17]. Disk difüzyon yönteminde kullanılan prosedüre benzer şekilde,

mikrobik inokülüm hacmini tüm agar yüzeyine yayarak aşılır [19]. Çapı 6-8 mm arasında değişen bir kuyu aseptik olarak açılır. Daha sonra bitki özütünün sabit bir hacmi agar kuyusuna konur ve test mikroorganizmasına bağlı olarak optimum sıcaklık ve sürede inkübe edilir [17]. Bu kuyulardan agar ortamına aktif madde difüzyonu gerçekleşir ve kaynak çevresinde bakteri üremesini inhibe eder. Sonucunda bakteriyel büyüme olmadan berrak bölgeler oluşur. Bu bölgelerdeki çap antibiyotik konsantrasyonu ile birlikte artar [21]. Bu çapın milimetrik ölçümü ile antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları elde edilir.

1.3.2. Bitkilerin Antimikrobiyal Etkileri ile İlgili Bazı Çalışmalar

Dünya çapında, bitkilerin antimikrobiyal aktivite etkileri hakkındaki çalışmalara hızla devam edilmektedir.

2016 yılında, Dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yaygın olarak bulunan 700'den fazla türe sahip, aromatik ve tıbbi özellikleri nedeniyle ekonomik önemi büyük *Piper L.* (Piperaceae) cinsi ile Ekvatorda yapılan bir çalışmaya göre; *Piper lenticellosum* uçucu yağının antibakteriyel aktivitesi, uluslararası referans bakteri suşlarına karşı belirgin bir inhibisyon göstermiştir. Sonuçlar, esansiyel yağın aktivitesinin en iyi *S. aureus*, *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ye karşı olduğunu göstermiştir. *P. lenticellosum* esansiyel yağının antibakteriyel aktivitesi, yağın ana bileşeni olan piperitonun varlığına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Buna ek olarak, diğer *Piper* türleri, α -pinen ve β -pinen gibi monoterpenlerin varlığıyla ilişkili olarak farklı gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı, antibakteriyel aktiviteler göstermiştir [22].

2016 yılında yapılan bir çalışmada *Abies cilicica* ssp.'nin yaprak ve çiçekli konilerinin metanolik, etanolik ve asetonik ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Suriye'de doğal olarak yetişen endemik bir tür olan *A. cilicica* yapılan çalışma sonucunda elde edilen veriler, test edilen patojenlere karşı aseton çiçekli konileri ekstraktları en yüksek inhibisyon bölgesi ve en düşük inhibisyon konsantrasyonlara sahip olduğunu ve etanol yaprak ekstraktlarının test edilen tüm mikroorganizmalara karşı en düşük güçlü ekstre olduğunu ortaya çıkarmıştır. *P. vulgaris*, en duyarlı izolat olarak kabul edilirken *A. niger* mantarı, en yüksek toleranslı izolat olarak kabul edilmiştir. Mevcut araştırmalar Suriye'de doğal olarak yetişen antibakteriyel ve antifungal bir kaynak olarak *A. cilicica* özütlerinin potansiyel etkinliğini kanıtlamıştır [23].

Yine 2016 yılında yapılan bir çalışmada, Hindistan Andaman Adaları sakinleri tarafından folklorik tıpta kullanılan bazı endemik bitki türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *Alstonia kurzii*, *Tabernaemontana crispera*, *Mangifera andamanica* ve *Vitex diversifolia* bitkilerinin yapraklarından hazırlanan etanol özleri; insanlardan klinik olarak izole edilmiş patojenik bakterilere karşı antibakteriyel aktivite ve bazı fitopatojen mantarlara karşı antifungal aktivite açısından değerlendirilmiştir. Etanol ekstraktları, Gram (-)'lere kıyasla Gram (+) bakterilere karşı daha fazla inhibisyon göstermiştir. Bakteri suşlarının, test edilen fungal suşlardan daha fazla duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir [24].

2015 yılında *Taverniera abyssinica* A. Rich, "Dingetegna" yerel adı altında bilinen, yaygın olarak kullanılan Etiyopya endemik tıbbi bitkisi ile yapılan bir çalışmada, şifalı bitkinin kökü üç farklı ekstraksiyon çözücüsü kullanılarak çıkarılmış ve *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Escherichia coli*'ye karşı *Candida albicans* ve *Aspergillus flavus*'un klinik izolatına karşı antimikrobiyal aktivitenin belirlenmiştir. Özellikle *S. aureus*'un diğer test edilen mikroorganizmalara kıyasla en hassas mikroorganizma olduğu görülmüştür [25].

2015 yılında Cezayir'de endemik bir şifalı bitki olan *Rosmarinus eriocalyx* (*R. eriocalyx*)'in uçucu yağ ve toplam polifenollerin patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal potansiyeli değerlendirilmiştir. *R. eriocalyx* özütleri tarafından ilginç bir antimikrobiyal aktivite gösterilmiştir. Esas olarak flavonoidler tarafından oluşturulan polifenoller, asgari engelleyici konsantrasyon değerlerine göre en etkili ekstre, esansiyel yağın ise daha az etkili olduğu belirlenmiştir. *R. eriocalyx* özütlerine karşı en duyarlı suşlar olarak *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans* olarak bulunmuştur. *R. eriocalyx* uçucu yağın kimyasal bileşimi açısından kafes, 1.8-sineol, kamfen ve α - pinen ana bileşikler olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağdaki zenginliği ve özellikle flavonoidleri nedeniyle *R. eriocalyx* etkili ve güvenli antimikrobiyal ajanlar için bir kaynak olabileceği tespit edilmiştir [26].

Gerek bitki çeşitliliği gerekse endemik türler açısından zengin bir ülke olan Türkiye'de son yıllarda bitkilerle ilgili yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmaları önem kazanmıştır.

2016 yılında Türkiye'de yetişen endemik bir tür olan *Ferulago blanchiana* Post. türünün toprak üstü, çiçek ve köklerinden uçucu yağları elde edilmiş, elde edilen uçucu

yağların *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı etkili olduğu tespit edilmiş, buna karşın toprak üstü ve köklerden elde edilen uçucu yağların *S. aureus*'a karşı nispeten az etkili olduğu görülmüştür [27].

Aynı yıl başka bir çalışmada Düzce ilinden toplanan, 51 taksonu ülkemizde endemik olan *Stachys thirkei* C. Koch (Lamiaceae) bitkisinden elde edilen etanol, kloroform ve etil asetat ekstraktlarının *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella oxytoc*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia pestis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Listeria innocua* bakteri kültürleri ve *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans* ve *Debaryomyces hansenii* maya kültürlerine karşı inhibisyon zonu oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bitkinin en yüksek antifungal aktivitesi ise etanol ekstraktında *C. glabrata* maya kültürüne, en yüksek antibakteriyel aktivitesi etil asetat ekstraktında *S. aureus* bakterisine karşı ölçülmüştür [28].

2016 yılında 24 hastadan alınan kültür örneklerinden izole edilen mikroorganizmalara karşı Sinop'tan toplanan *Jurinea kilae*, *Isatis arenaria*, *Verbascum degenii* ve *Panocratium maritimum* bitki türlerinden farklı çözücüler (metanol, etanol ve su) kullanılarak elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. *I. arenaria* ve *V. degenii* türlerinden elde edilen metanol ve etanol ekstraktları *Klebsiella pneumoniae* ssp. *ozaenae*, *Proteus*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Kocuria* ve *Candida*'ya karşı daha yüksek aktivite göstermiş, ekstraktların, Gram (-) bakteriler ve mayalara kıyasla Gram (+) bakterilere karşı daha etkili oldukları saptanmıştır. Sonuç olarak *I. arenaria* ve *V. degenii* türlerinden elde edilen metanol ve etanol ekstraktlarının antimikrobiyal bileşikler içerdiği ve bunun yeni ilaç geliştirilmesinde kullanılabileceği araştırmacılar tarafından önerilmektedir [29].

Türkiye'de 20 tür ve dünya çapında 70 türden oluşan *Alcea pallida* ve *Alcea apterocarpa* özütlerinin uçucu yağlarının ana bileşenleri *A. pallida* için araşidik asit ve *A. apterocarpa* için hekzatriakontan olarak tanımlanmıştır. Ayrıca *A. pallida* ve *A. apterocarpa*'nın petrol eteri özlelerinden elde edilen yağlı asitlerin ana bileşenleri, sırasıyla, palmitik asit ve oleik asit olarak tanımlanmıştır. 2016 yılında yayınlanan bu çalışmada *A. pallida*'nın aseton özütü, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı zayıf, *Candida albicans*'a karşı orta derecede etkinliğe sahip antimikrobiyal aktivite gösterirken *A. apterocarpa*'nın aseton özütü, *C. albicans*'a ve *S. aureus*'a karşı orta antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

E. coli, *S. pyogenes* ve *P. aeruginosa*'ya karşı zayıf aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [30].

2015 yılında yayınlanan bir çalışmada ise, *Asphodeline anatolica* E. Tuzlaci yapraklarının aseton, metanol ve sulu ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi, ATCC, gıda ve klinik izolatlarla karşı değerlendirilmiştir. Bitkinin aseton ekstraktı, Metisiline dirençli suşları, *L. monocytogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa*'yı içeren *S. aureus*' a karşı diğer ekstraktlara kıyasla daha yüksek bir antibakteriyel etkinlik belirlenmiştir. Ekstraktların fitokimyasal taraması, esasen kateşin 3-O-gallat, protokateşuik asit, diosmin, rutin, cirsimaritin ve kaempferol glukozid olarak tanımlanan altı polifenol bulunduğunu göstermiştir. Bu çalışma ile *A. anatolica* yapraklarının, doğal antimikrobiyal bileşik kaynağı olarak potansiyele sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır [31].

1.4. BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ

1.4.1. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikal reaksiyonlarını inhibe eden veya söndüren, hücresel hasarı geciktiren veya inhibe eden moleküllerdir. Antioksidan savunmalar türler arası farklı olmakla birlikte, antioksidan savunma varlığı evrenseldir. Antioksidanlar hem hücre içi hem de hücre dışı ortamda, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan formlarda bulunmaktadır [32]. Oksidasyon, elektronu bir maddeden oksitleyici bir ajana aktaran kimyasal reaksiyondur [33]. İnsan vücudunda, oksijen molekülü, yaşam için vazgeçilmez bir elementtir. Kimyasal ve ısı enerjisi elde etmek için biyolojik olarak karbon ve hidrojen açısından zengin molekülleri oksitlemekte (yakmakta) kullanılmaktadır. Bununla birlikte, oksijen tehlikeli bir arkadaştır [34]. Oksidasyon reaksiyonları, hücrelere zarar veren zincir reaksiyonlara neden olan serbest radikal üretebilir [33]. Serbest radikaller, herhangi bir biyokimyasal sürecin temelidir ve aerobik yaşamın ve metabolizmanın önemli bir parçasını temsil eder [35].

Antioksidanlar ve serbest radikaller arasında bir denge söz konusudur. Antioksidanlar serbest radikallerin seviyesini düşürür ve çok fazla zarar vermeden yararlı biyolojik fonksiyonları yerine getirmelerine izin verir [36]. Hastalık ve bozuklukların çoğunluğu esas olarak serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stres ile bağlantılıdır [35].

Serbest radikaller ve oksidanlar, çok kısa yarılanma ömrüne, yüksek reaktiviteye ve makromoleküllere karşı zararlı bir etkiye sahip olan türlerdir [35].

1.4.2. Serbest Radikaller

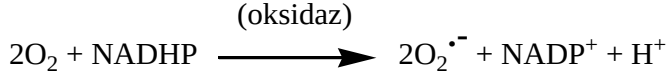
"Serbest radikal" terimi birkaç tanımın yanı sıra "serbest" teriminin kullanımının gerekliliği konusunda tartışmalar vardır. "Radikal" ve "serbest radikal" terimleri sıkça birbirlerinin yerine kullanılırlar. Eşlenmemiş elektronlu herhangi bir reaktif molekül geleneksel olarak bir üst simge ($\bullet$) uygulamasıyla temsil edilir. Aslında, "serbest" kelimesi, serbest "radikal" olan $R\bullet$ ve "radikal" bağlı olan $R\bullet-X\bullet$ 'in arasındaki ayrımın açıklanması amacıyla kimyagerler tarafından kullanılmıştır. Serbest radikal tanımı, en dıştaki kabuk konfigürasyonunda en az bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren bağımsız bir özellik gösterebilen herhangi bir atom (örneğin, oksijen, azot), atom grubu veya moleküler tür olduğu belirtilerek yapılır. Serbest radikaller, reaktif oksijen türleri veya reaktif azot türleri olarak da bilinir. Eşleşmeyen elektron genellikle serbest radikal için oldukça yüksek bir reaktiviteye sahiptir [37].

Reaktif oksijen türleri (ROS) normal hücresel metabolizmanın bir sonucu olarak canlılar tarafından üretilir. Düşük ve orta konsantrasyonlarda fizyolojik hücre işlemlerinde görevlidirler ancak yüksek konsantrasyonlarda lipidler, proteinler ve DNA gibi hücre bileşenleri üzerinde olumsuz değişiklikler meydana getirirler [38]. ROS listesi Çizelge 1.1'de verilmiştir.

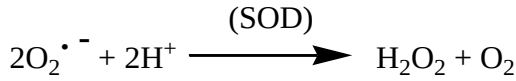
Çizelge 1.1. ROS listesi.

Sembol	Adı
${}^1O^2$	Singlet oksijen
$O^{2\bullet-}$	Süperoksit anyon
$\bullet OH$	Hidroksil radikali
$RO\bullet$	Alkoksil radikali
$ROO\bullet$	Peroksil radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksit
$LOOH$	Lipid hidroperoksit

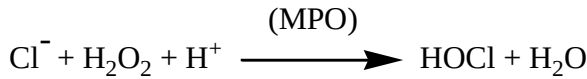
Mitokondri, ROS'un ana kaynağıdır. Bu organel tarafından tüketilen oksijenin yaklaşık % 1-2'si esas olarak elektron taşıma zincirinin aktivitesi vasıtasıyla ROS üretimine neden olur [39]. Serbest radikallerin genel mekanizmasında; ROS üretimi, hızlı oksijen alımı, NADPH oksidazın aktivasyonu ve süperoksit anyon radikalinin üretimi ile başlar [32].



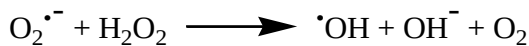
$O_2^{\bullet-}$ daha sonra hızla SOD ile H_2O_2 'ye dönüştürülür [32].



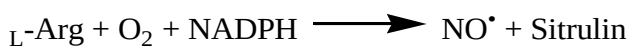
Bu ROS, mikroorganizma ya da diğer yabancı maddelerin tahrip edilmesiyle sonuçlanan iki oksijen bağlı mekanizması aracılığıyla etkide bulunabilir. Reaktif türler aynı zamanda miyeloperoksidaz-halid- H_2O_2 sistemi ile de üretilebilir. Miyeloperoksidaz enzimi (MPO), nötrofil sitoplazmik granüllerde bulunur. Her yerde bulunan klorür iyonunun varlığında, H_2O_2 , güçlü bir oksidan ve antimikrobiyal ajan olan hipoklorüre (HOCl) dönüştürülür [32].



ROS, Fenton ve/veya Haber-Weiss reaksiyonları ile solunum patlaması yoluyla $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 'den üretilir [32].

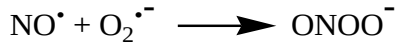


Enzim nitrik oksit sentaz, arginin den nitrik oksit ($NO\bullet$) gibi reaktif azot türleri (RNS) üretir [32].



İndüklenebilir bir nitrik oksit sentaz (iNOS), sürekli olarak $O_2^{\bullet-}$ söndürücü olarak işlev gören büyük miktarda $NO\bullet$ üretebilir. $NO\bullet$ ve $O_2^{\bullet-}$, çok güçlü bir oksidan olan peroksinitrit ($ONOO^-$) üretmek için birlikte reaksiyona girer ve böylece her biri diğerinin etkilerini modüle edebilir. Ne $NO\bullet$ ne de $O_2^{\bullet-}$ güçlü bir oksidan olmasa da,

peroksinitrit çok çeşitli biyolojik hedeflere saldırabilen güçlü ve çok yönlü bir oksidandır [32].



Peroksinitrit, enzimdeki aromatik amino asit kalıntılarıyla reaksiyona girerek aromatik amino asitlerin nitrasyonuyla sonuçlanır. Amino asit kalıntısında böyle bir değişiklik, enzim inaktivasyonuna neden olabilir. Bununla birlikte, nitrik oksit, tümör hücrelerine, çeşitli protozoonlara, mantarlara, helmintlere ve mikobakterilere karşı savunmada önemli bir sitotoksik efektör molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonlarının diğer kaynakları, siklooksijenasyon, lipooksijenasyon, lipid peroksidasyonu, ksenobiyotik metabolizması ve morötesi radyasyonlardır [32].

Serbest radikaller yoluyla oksidasyonun zincirleme reaksiyon süreci, başlatma, çoğaltma, dallanma ve sonlandırma da dahil olmak üzere bir takım adımları içerir. Isı, ışık ve iyonize radyasyon gibi harici ajanlar oksidasyon sürecini başlatabilir veya kimyasal olarak metal iyonlarıyla başlatılabilir [40]. Serbest radikallerin oluşumu sürekli ve fizyolojik bir hücre sürecidir. Yeterli oranlarda üretimi, adenosin trifosfat (ATP), fagositoz, hücre büyüme regülasyonu ve bulaşıcı süreçte savunma mekanizmalarına katılım yoluyla enerji üretilmesini sağlayacaktır. Bununla birlikte, bunların aşırı üretimi, zararlı etkiler gösterir. Yine de, reaktif tür konsantrasyonları ile vücudun antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik, ilkin nazaran, oksidatif strese neden olur [41]. Oksidatif stres, ROS sistemik oluşması ile biyolojik sistemin reaktif ara maddeleri kolayca etkisizleştirme veya ortaya çıkan hasarı onarma arasındaki dengesizliktir [38]. Oksidatif stresin nedeni, sadece reaktif oksijen formlarının üretimindeki artışta değil, aynı zamanda düşük moleküllü antioksidanların eksikliğinde ve antioksidan enzimlerin erken devre dışı bırakılmasında da aranabilir [42].

Oksidatif stres, proteinlerin, nükleik asitlerin ve lipidlerin hasar görmesini içerir [42]. İnsanlarda oksidatif stresin, kanser, Parkinson ve Alzheimer hastalığı, ateroskleroz, kalp yetmezliği, miyokard enfarktüsü, kırılğan X sendromu, orak hücre hastalığı, liken planus, vitiligo, otizm, enfeksiyon, depresyon ve kronik yorgunluk sendromu gelişiminde rol aldığı düşünülmektedir [38].

Serbest radikaller ve singlet oksijen, hidroksil radikali, süperoksit anyon ve peroksil radikali gibi diğer ROS, insan vücudundaki normal metabolizma sonucu üretilebilir ve DNA, proteinler ve lipidler gibi fonksiyonel makromoleküllere oksidatif hasar verebilir. Bu, nörodejeneratif hastalıkların, inflamasyonun, aterosklerozun, kanserin ve yaşla ilgili bozuklukların görülme şansını artırır [43].

1.4.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Arasındaki İlişki

Antioksidanlar, diğer moleküllerin oksidasyonunu önleyebilen veya yavaşlatabilen maddelerdir. Koruyucu etkilerini ya serbest radikaller oluşumunu baskılayarak ya da serbest radikalleri gidererek uygulamaktadırlar [34]. Serbest oksijen radikalının ortaya çıkmasını antioksidanların yardımıyla önleme olayı seçici bir süreç değildir [42].

İki tip antioksidan vardır. Bunlar askorbik asit (vitamin C), α - tokoferol (vitamin E), glutatyon (GSH), karotenoidler, flavonoidler ve diğer antioksidanlar gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşikler ve süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GP-x) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan aktiviteye sahip enzimlerdir [44].

İnsan vücudundaki redoks dengesinin merkezi olan "antioksidanlar" terimi, serbest radikal için bir elektron bağışlayacak ve nötralize edecek, böylece bir hedef molekülün zarar görme kapasitesini azaltacak kadar kararlı herhangi bir molekülü belirtmektedir. Antioksidanlar, hidroperoksitleri ve H_2O_2 'yi azaltarak aktif türlerin üretimini bastırmak ve ayrıca metal iyonlarını salıvermek, aktif serbest kökleri temizlemek, hücre hasarını onarmak ve/veya temizlemek yoluyla zincir reaksiyonunun sona erdirilmesi gibi farklı mekanizmalar yoluyla etkilerini gösterebilir. Benzer şekilde, bazı antioksidanlar ayrıca diğer antioksidanların veya savunma enzimlerinin biyosentezini indükler [34].

Son zamanlarda, serbest radikal kaynaklı doku hasarını azaltmada antioksidan olarak terapötik potansiyelli şifalı bitkilere daha fazla dikkat verilmiştir. Birçok bitki, yeni antioksidanlar aramak üzere araştırılmıştır [45]. Antioksidanlar ya da oksidasyon inhibitörleri, oksidasyonu geciktiren ya da engelleyen ve genel olarak oksitlenebilir maddenin ömrünü uzatan bileşiklerdir [35] ve bitkiler ROS ve serbest radikallere karşı koruma sağlayan çeşitli antioksidan bileşikler üretmektedir [46]. Tıbbi bitkilerin birçoğu, antioksidan ve diğer ilgili koruyucu özelliklere katkıda bulunabilir. Bu bileşikler arasında, fenolik asitler, flavonoidler, terpenler, tokoferoller, vitamin C ve karotenoidler, çeşitli tıbbi bitkilerde iyi dağıldığı için önemlidirler. Tıbbi bitkilerdeki bu antioksidanlar bağımsız olarak hareket edebilir veya kombine sinerjik etkiye sahip

olabilir [47]. Bu bileşikler, bitkiler tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir ve bunlar morötesi radyasyona karşı savunma mekanizmasının ve patojenlerin saldırganlığının bir parçasıdır [39].

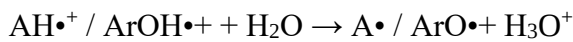
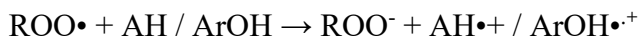
Son yıllarda bitki polifenoller, oksidatif stres ve serbest radikal kaynaklı hasarla ilgili birçok hastalıkta profilaktik ve terapötik maddeler olarak potansiyel kullanımlarından dolayı önem kazanmıştır [34]. Sentetik antioksidanların kanserojen olduğundan şüphelenilen kullanım kısıtlamaları olduğu için, doğal antioksidanların araştırılmasının ve bu antioksidanların kullanılmasının önemi, günümüzde büyük ölçüde artmıştır [45]. Süperoksit, hidroksil radikali ve peroksil radikali de dahil olmak üzere reaktif serbest radikaller genellikle şeker hastalığı, kanser ve ateroskleroz gibi birçok kronik hastalığa bağlı olduğu düşünülen protein, lipid peroksidasyonu ve DNA oksidasyonunun bozulmasına neden olur [48].

1.4.4. Antioksidan Kapasite Analizlerinde Kullanılan Yöntemler

Antioksidan aktivitesi (AOA) ve antioksidan kapasite (AOK) terimleri, farklı anlamlara sahiptir. Antioksidan aktivitesi, bir antioksidan ile prooksidan veya radikal arasındaki bir reaksiyonun radikal giderme veya azaltma kinetiğini ele alırken, antioksidan kapasitesi bir antioksidan ile tepki veren oksidanın termodinamik dönüşüm etkinliğini ölçer [49]. Temel antioksidan kapasite yöntemleri, inaktivasyon mekanizması temelinde, hidrojen atomu transferi (HAT) reaksiyonu ve elektron transferi (ET) reaksiyona dayalı yöntemler olmak üzere genel olarak iki kategoriye ayrılmıştır [50]. HAT ve ET tabanlı tahliller, bir numunenin önleyici antioksidan kapasitesi yerine radikal veya oksidan atma kapasitesini ölçmek için tasarlanmıştır [51].

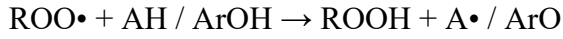
ET tabanlı tahliller, reaksiyon son noktasının göstergesi olarak oksidan ile bir redoks reaksiyonu içerir. Çoğu HAT tabanlı tahliller, rekabetçi reaksiyon kinetiklerini izler ve nicelleme, kinetik eğrilerden türetilir [51].

Antioksidan eylemin ET mekanizmasında reaksiyonu;



HAT tabanlı yöntemler genellikle sentetik bir serbest radikal jeneratörü, oksitlenebilir bir moleküler prob ve bir antioksidandan oluşur [51]. HAT tabanlı tahliller, bir

antioksidanın H atomu bağışıyla serbest radikalleri söndürme kabiliyetini ölçer. Bir fenolün (Ar-OH) hidrojen atomunun (H^+) bir $ROO\bullet$ radikaline aktarıldığı antioksidan eylemin HAT mekanizmaları,

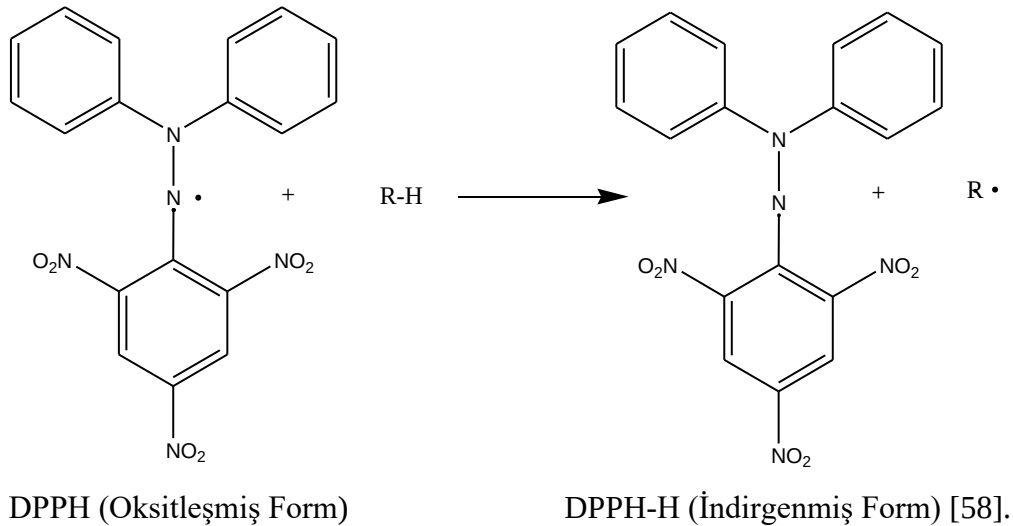


reaksiyonu ile özetlenebilir [52]. HAT reaksiyon mekanizmalarını kullanan AOC yöntemleri; hem genel hem de spesifik antioksidan etki tespiti için oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi (ORAC) ve toplam radikal tutucu antioksidan parametresi (TRAP) (ve bazı varyantları), gibi bir takım testler geliştirilmiştir [53].

1.4.4.1. DPPH Radikal Giderme Kapasite Analizi

Elektron transferi reaksiyon mekanizmasına dayalı analizdir [54]. DPPH yöntemi gıda, içecek gibi bileşiklerin serbest radikal süpürücü veya hidrojen verici olarak hareket etme yeteneğini ölçmek için hızlı, basit, doğru ve ucuz bir testtir [55].

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), molekül üzerinde bulunan elektronun delokalizasyonu nedeniyle, kararlı bir serbest radikaldir [40]. Yöntem DPPH'nin indirgenmesine dayanır. Antioksidanlar, kararlı bir serbest radikal olan DPPH ile reaksiyona girdiğinde, bir hidrojen verici (örneğin bir serbest radikal giderici antioksidan) varlığında çiftleşir ve DPPH-H'a düşürülür ve sonuç olarak DPPH absorbansı azalır. DPPH-H formuna radikal olan, yakalanan elektron sayısına göre renksizleştirmeye (sarı renk) neden olur. Renksizleşme azalan absorbansın göstergesidir [56]. Bu dönüşüm spektrofotometrik olarak ölçülen mordan sarıya renk değişikliği ile sonuçlanır. Mor renk kaybolması 517 nm'de izlenir [57].

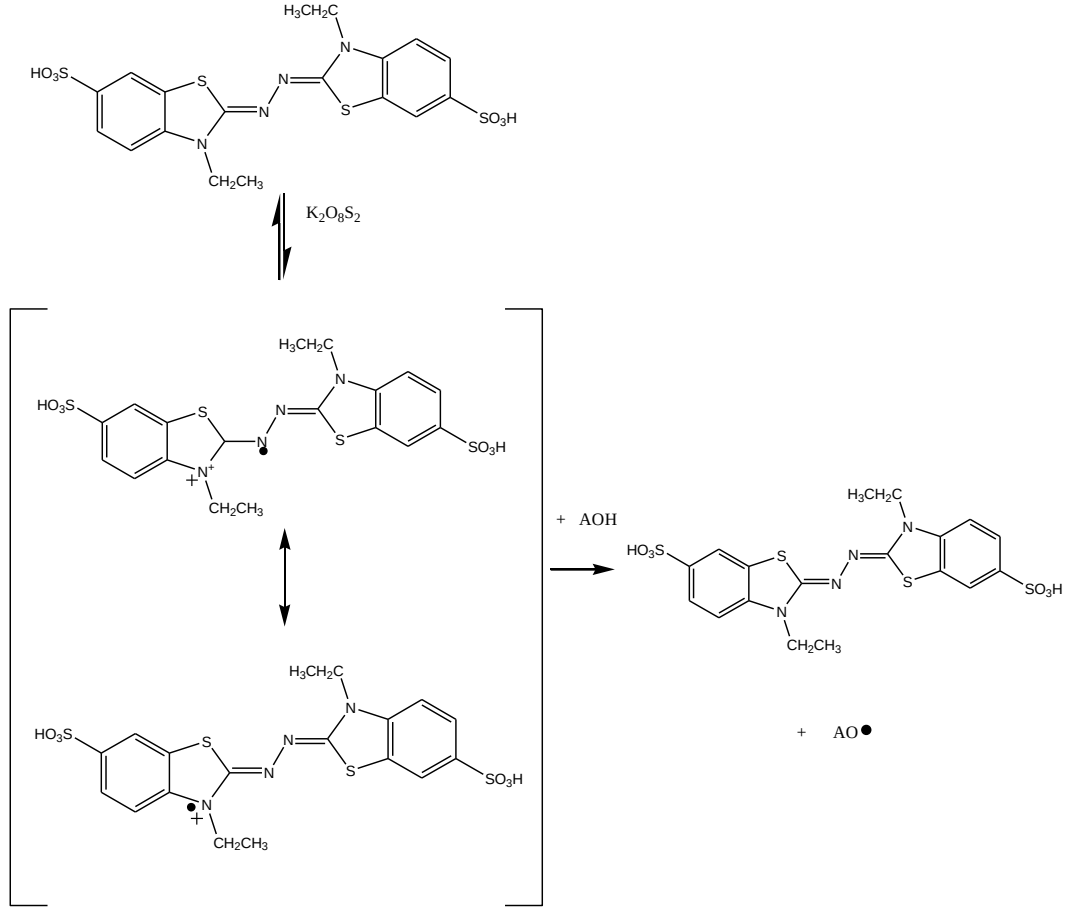


Bu deneyde pozitif kontroller askorbik asit, gallik asit, BHA, α -tokoferol, kersetin, BHT, rutin, kateşin veya glutatyon olabilir [57]. DPPH'ın kolorimetrik tahmini basit bir yöntemdir, ancak pigmentlerin karışması nedeniyle renkli gıdalar için uygun bir yöntem değildir [59].

1.4.4.2. ABTS Radikal Giderme Kapasite Analizi

Elektron transferi reaksiyon mekanizmasına dayalı analizdir [54]. 1993'de Miller ve arkadaşları, kolorimetriye dayalı toplam antioksidan kapasite (TAC) ölçümü için bir başka teknik belirlemişlerdir [60].

Bu deneyin prensibi, ABTS [2,2'-azinobis- (3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit)] ve bir peroksidazın inkübe olarak nispeten kararlı bir radikal katyon olan $ABTS^{\bullet+}$ oluşturmaktır [60]. $ABTS - e^- \rightarrow ABTS^{\bullet+}$ reaksiyonundan oluşan $ABTS^{\bullet+}$, renksiz 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) (ABTS) oluşturmak üzere etanol / hidrojen vericileriyle çabucak reaksiyona girer. Reaksiyon pH'dan bağımsızdır. $ABTS^{\bullet+}$ konsantrasyonunda azalma, lineer olarak antioksidan konsantrasyona bağlıdır. Radikal katyon $ABTS^{\bullet+}$, ABTS'nin persülfat oksidasyonu ile üretilir [57]. ABTS radikal katyonları, oda sıcaklığında karanlıkta 16 saat inkübe edildiğinde ABTS'nin potasyum persülfatla reaksiyona girdiğinde üretilir [61]. Bu yöntem, bir antioksidan mavi-yeşil kromofor $ABTS^{\bullet+}$ (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) eklendiğinde renk kaybını ölçmek için bir diyod dizi spektrofotometre kullanır. Antioksidan, $ABTS^{\bullet+}$ 'yi ABTS'e indirgeyip renk giderir. $ABTS^{\bullet+}$ insan vücudunda bulunmayan dengeli bir radikaldir [62].



Trolox veya herhangi bir başka hidrojen veren antioksidan ise, azot atomu hidrojen atomunu söndürerek renksiz bir solüsyon üretir. Potasyum fosfat veya mangan dioksit, standart antioksidan olarak seçilen Trolox varlığında ABTS üreten ABTS katyon radikalini ($ABTS^{\bullet+}$) oksitleyebilir, absorbanı 743 nm'de azalır [41].

Antioksidan aktivite, oksidasyon sürecini inhibe etme kabiliyetini temsil ederken, antioksidan aktivite bileşiklerin serbest radikal ile reaksiyona girme kabiliyetini karakterize eder. Sonuç olarak, istikrarlı bir serbest radikal (DPPH, ABTS, vb.) kullanarak test edilen tüm sistemler, çoğu durumda bu aktivite antioksidan aktiviteye karşılık gelmesede, radikal süpürücü veya antioksidan aktivite hakkında bilgi verir [52].

1.4.5. Bitkilerin Antioksidan Etkileri ile İlgili Bazı Çalışmalar

Antioksidan aktivite analizleri birçok bitkisel kaynağın yüksek oranda antioksidan madde içermesi sebebi ile tüm dünyada çalışılmaktadır.

2014 yılında Portekiz'de diyet ve tıbbi endemik *Helichrysum* bitkilerinin potansiyel biyoaktivitesi, genel tüketiciye yeni bilgi sağlamak için ilk kez araştırılmıştır. *Helichrysum* cinsi bitkileri Asteraceae familyasına aittir ve 500'den fazla türe sahiptir.

Normalde bitkisel ilaçlar olarak kullanılırlar ve karın ağrısı, kalp yanığı, öksürük, soğuk algınlığı ve yaraların yanı sıra antioksidan, antimikrobiyal, anti-inflamatuar, anti-alerjik gibi birçok biyolojik aktivite ile ilişkilendirilirler. Bu bitkinin DPPH, ABTS^{•+}, FRAP ve β - Karoten analizleri kullanılarak *in vitro* antioksidan özellikleri araştırılmış ve toplam fenolik içerik (TPC) ve toplam flavonoid içeriği (TFC) de belirlenmiştir. Sonuçlar genellikle analiz edilen üç bitki arasında büyük bir farklılık göstermesine rağmen, metanolik özütler en yüksek antioksidan kapasitesini göstermiştir [63].

2016 yılında yapılan bir çalışmada *Barleria longiflora* Linn'in farklı çözücü ekstraktlarının antioksidan aktivitesi incelenmiştir. *B. longiflora* isimli bitki Hindistan'ın güneyine dağılan bir bitki türüdür ve Tamilnadu'da yaygın olarak sıtma, baş ağrısı, karın ağrısı, dizanteri, pulmoner tüberküloz, diyare, soğuk algınlığı, yara, yılan sokması ve zehirlenme gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde folklor tıbbında kullanılmaktadır. *B. longiflora*'nın antioksidan aktiviteleri için DPPH, FRAP ve ABTS analizine ilişkin farklı çözücü özütlerini değerlendirilmesi ile yapılan çalışmanın sonucunda, test edilen farklı ekstraktlar arasında, etanol özütü, önemli antioksidan aktivite göstermiştir [64].

2016 yılında yayınlanan çalışmada, dört Brezilya yerli meyvesinin (*Eugenia leitonii*, *E. involucrata*, *E. brasiliensis* ve *E. myrcianthes*) yaprak, tohum ve meyve özü ekstraktlarının antioksidan ve antienflamatuar etkinliklerinin yanı sıra fenolik bileşimi değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda, etanolik ekstraktların GC-MS analizleri, bu meyvelerdeki başlıca bileşikler olarak epikateşin ve gallik asit bulunduğunu göstermiştir. Meyve özleri ayrıca peroksil, süperoksit ve hipokloröz asit gibi biyolojik açıdan ilgili radikallere karşı antioksidan etki sergilemiştir. Genel olarak, meyve özleri en düşük antioksidan aktiviteleri gösteren meyve fraksiyonları iken, yapraklar en yüksek antioksidan aktivite sergilemiştir [65].

2016 yılında yayınlanan bir çalışmada Meksika'dan Uruguay'a ve Arjantin'e dağılmış yaklaşık 92 tür içeren *Psidium* cinsinin bir üyesi olan *Psidium cattleianum* Sabine'in uçucu yağ ve bitki özlerinden sulu ve etanoliklerin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini; *P. cattleianum* esansiyel yağının kimyasal bileşimi; ve aynı bitkinin sulu ve etanolik ekstraktlarının fitokimyasal taramaları yapılmıştır. Antioksidan potansiyeli hakkında etanolik ve sulu ekstraktlar, % 90'ı aşan bir temizleyici indeks sergilerken, esansiyel yağ önemli antioksidan aktivite göstermemiştir. Fitokimyasal bileşimle ilgili olarak, *P. cattleianum* esans yağında tanımlanan uçucu bileşiklerin en büyük sınıfı aşağıdaki terpenik hidrokarbonları içermektedir ve bunlar α -kopaen; okaliptol, δ -

kadinen ve α -selinen'dir. Bu çalışmada sonucunda ekstraktların fitokimyasal taraması, sulu ve etanolik ekstraktlar için tanenler, flavonoidler ve triterpenoidlerin varlığını göstermiştir [66].

2015 yılında yapılan bir çalışmada, Brezilya'da büyük ekonomik, sosyal ve ekolojik önemi olan bir tür olarak bilinen ve Halk hekimliğinde yapraklar şeker hastalığı, inflamasyon, mide ve rahim ağrıları ve kabızlık tedavisinde kullanılan yarı tatsız bitki *Spondias tuberosa* Arruda (umbuzeiro)'nın etil asetat ve metanol yaprak özütlerinin antioksidan özellikleri, farklı yöntemler kullanılarak *in vitro* olarak değerlendirilmiş: DPPH ve ABTS tahlilleri ile serbest radikaller eliminasyonu ve fosfomolibden deneyiyle geçiş metali indirgemesi yapılmıştır. Metanolik yaprak özleri, en güçlü antioksidan aktiviteyi ve toplam fenolik ve flavonoidler için daha yüksek değerleri göstermiştir. Sonuçlar, *S. tuberosa* yapraklarının antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve bunun fenolik içeriğe bağlı olduğunu belirlenmiştir [67].

Türkiye'de bitkilerle ilgili antioksidan aktivite çalışmaları hızla yapılmaktadır. 2015 yılında yayınlanan bir çalışmada, Türkiye endemik takson olan *Allium desiduum* alttür *deciduum* ve alttür *retrosumumun* soğanları ve yapraklarından elde edilen çeşitli çözücü ekstraktlarının antioksidan ve antibakteriyel etkinlikleri araştırılmıştır. Ekstraktların antioksidan aktivitesi, DPPH radikal giderme ve β -karoten/ linoleik asit tahlilleri ile belirlenmiştir. Endemik soğan özütü, kullanılan her türlü çözücü ile yaprak özlerinden daha yüksek antioksidan aktivite sergilemiştir. Antioksidan aktivitesi ile ekstraktların fenolik içeriği arasında pozitif bir korelasyon gözlemlenmiştir. Metanol ve etanol özütlerinin antibakteriyel aktivitesi, iki bakteri *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye agar kuyu difüzyon yöntemi ile incelenmiş ve *A. deciduum* alttür *desiduum*'un soğan metanolik özleri, *S. aureus*'a karşı yüksek antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir [68].

Anadolu'da 8'i endemik olan türlerden 14 tıbbi bitkinin metanolik özlerinin *in vitro* antioksidan potansiyelini değerlendirmek amacıyla 2015 yılında bir çalışma yayınlanmıştır. Bitki özlerinin antioksidan aktivitesi DPPH, FTC ve TBA yöntemi ile test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, test edilen metanolik bitki ekstraktları arasında antioksidan potansiyeli açısından önemli farklılıklar göstermiştir. Bitki örnekleri arasında, *Crataegus microphylla* C. Koch, *Salvia hypargeia* Fisch. & Mey., *Cotinus coggygia* Scop., *Origanum sipyleum* L. ve *Rosa damascena* Miller, en yüksek DPPH temizleme aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Beş ekstre (*Centaurea nerimaniae*

Ş. Kültür, *C. coggygia*, *Scorzonera tomentosa* L., *Rosa damascena* ve *Colchicum sanguicolle* K.M. Perss), FTC ve TBA testlerinde güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. *Cotinus coggygia* ve *Rosa damascena* metanolik ekstraktları DPPH, FTC ve TBA yöntemleri ile güçlü antioksidan aktiviteye sahip oldukları yapılan çalışma ile tespit edilmiştir [69].

Türkiye'de 2015 yılında doğal olarak yetişen beş *Lathyrus* türünün antioksidan aktivitesi ve fenolik bileşen miktarı belirlenmiştir. *Lathyrus* türleri arasında *L. aureus* türü en yüksek antioksidan aktiviteye sahip ve toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada bitki ekstraktlarının tüm metanol özütleri önemli miktarda fenolik bileşiklere sahip olduğu ve tüm ekstraktların radikal süpürücü aktivite sergilediği tespit edilmiştir. Yüksek fenolik içeriğe sahip özütlerin yüksek antioksidan aktiviteleri ile ilişkili olduğu düşünülmüştür [70].

2016 yılında yayınlanan bir çalışmada antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini ve fenolik içeriğini değerlendirmek için üç *Salvia* türü (*S. microstegia*, *S. aethiopis* ve *S. brachyantha*) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, tespit edilebilir toplam 18 fenolün varlığını göstermiştir; bunların en fazla miktarı, *S. microstegia*'da kaempferol ve *S. brachyantha* ve *S. aethiopis*'teki rosmarinik asit olduğu belirlenmiştir. Diğer önemli fenollerin apigenin, luteolin, p-kumarik asit ve klorojenik asit olduğu bulunmuştur. Test edilen tüm türler, BHA, BHT ve askorbik asit gibi standart antioksidanlara kıyasla ılımlı ve daha düşük antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir [71].

"Kırnanesi" olarak bilinen *Ziziphoraclinopodioides* bitkisi bağırsaklarla ilgili rahatsızlıklara mahsus bir aromatik çay hazırlanmasında ve aperitive Türkiye'de gaz giderici, antiseptik ve yara iyileşmesi malzemesi olarak kullanılır. 2016 yılında Türkiye'deki Çoruh Vadisi'nin değişik noktalarından örneklenen *Z. clinopodioides*'lerin sekiz ekotipinden elde edilen uçucu yağ kimyasal bileşimi belirlenmiş ve toplam fenolik içerik ve antioksidan aktiviteleri de değerlendirilmiştir. Uçucu yağın büyük bir kısmını temsil eden on yedi bileşen GC-MS ile tanımlanmıştır. Farklı ekotiplerden elde edilen bitki materyali hasatından elde edilen uçucu yağ için toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite farklar gözlenmiştir. *Z. clinopodioides* uçucu yağ, toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite, ekotip ve çevre koşullarından etkilendiği görülmüştür. Sonuçlar ayrıca Türk halk tıbbında *Z. clinopodioides*'in geleneksel kullanımını desteklemiştir [72].

1.5. BİTKİLERİN TOPLAM FENOLİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ

Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla aromatik halka ve bir veya daha fazla hidroksil grubu olan aromatik hidroksillenmiş bileşiklerdir. Bazıları hücredeki endojen antioksidan moleküllerin sentezini uyarır [73]. Serbest radikalleri nötralize etmek için yüksek potansiyele sahip moleküller olarak düşünülür. Bu bileşikler, serbest radikalleri süpürme ve *in vitro* ve *in vivo* olarak metalleri şelatlama yetenekleri nedeniyle antioksidan olarak etkindir. Bu nedenle fenolik bileşiklerin yüksek tüketimi kardiyovasküler hastalık ve kanser riskini azaltmaktadır [74]. Antioksidan aktivitelerin, çoğunlukla redoks özellikleri nedeniyle polifenol içeriğine orantılı olarak arttığı bilinmektedir. Polifenollerin çeşitli rolleri arasında hücre bileşenlerini tahrip edici oksidatif hasara karşı korurlar, böylece oksidatif stresle bağlantılı çeşitli dejeneratif hastalıkların riskini sınırlarlar ve bu nedenle de güçlü serbest radikal süpürücü olma eğiliminde olurlar [75]. İkincil metabolizmanın ürünü olan fenolik antioksidanlar, insan diyetlerinde doğal antioksidanlar için iyi kaynaklardır [76].

Fenolik bileşiklerin bitki dokularındaki birikimi, bitki stresinin belirgin bir özelliğidir, bitki dayanıklılığı ve çevresel rahatsızlıklara adaptasyon için çeşitli fizyolojik işlevler sunar. Savunmacı fenolik bileşikler, reaktif oksijen türlerinin genel olarak azalmasına katkıda bulunur ve bu nedenle redoks etkilerine duyarlı hücresel süreçleri etkiler [77]. Antioksidan olarak hareket etme kabiliyeti, kimyasal yapıları ve elektronları verme/kabul etme yeteneğine, dolayısıyla aromatik yapı içindeki eşleşmeyen elektronun delokalizasyonu özelliğine bağlıdır [75].

1.5.1. Folin-Ciocalteu Metodu ile Toplam Fenolik Bileşen İçeriklerinin Belirlenmesi

Folin-Ciocalteu kolorimetresi Singleton ve Rossi'nin reaktif maddenin kimyasal indirgeme metodu olan tungsten ve molibden oksitlerden oluşan bir karışımın çalışmalarına dayanmaktadır [51]. Fenolik bileşikler, sadece temel koşullar altında FCR ile reaksiyona girer. Ayrıca, değişkenliği en aza indirmek ve tutarsız sonuçların ortadan kaldırılması için; alkali ve FCR'nin uygun hacim oranı, renk gelişimi için en uygun tepki süresi ve sıcaklığı, 765 nm'de optik yoğunluğun izlenmesi, sıklıkla renklendirilen numune matrisinden gelen karışımı en aza indirmek, galik asit gibi referans standartların kullanılması gibi koşulları vardır [50].

ET tabanlı analizin reaksiyon denklemi Mo (VI) (sarı) + e- (AH'dan) → Mo (V) (mavi) şekilde özetlenebilir.

(AH= Korumalı biyomolekül). Burada oksitleyici reaktif, hipotezlenmiş aktif merkezin $\lambda_{\max} = 765 \text{ nm}$ olan Mo (VI) olduğu $3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-13\text{WO}_3-5 \text{ MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$ (heteropolianyon: $\text{P}_2\text{Mo}_5\text{W}_{13}\text{O}_{62}^{6-}$) içeren bir molibdofosfotungstik heteropoliasittir [49].

FCR testi uzun yıllardır, doğal ürünlerdeki toplam fenoliklerin bir ölçümü olarak kullanılmıştır, ancak temel mekanizma bir oksidasyon / indirgeme reaksiyonudur ve bu nedenle başka bir antioksidan yöntemi olarak düşünülebilir [53]. Bu yöntem hassas, kantitatif ve fenollerin polimerizasyon derecesine göre nispeten bağımsızdır, ancak müdahale edici etkileri için proteinler, nükleik asitler ve askorbik asit için düzeltme gerekebilir [51]. Yöntemin avantajı FCR'nin tanımlanmamış kimyasal niteliğine rağmen, toplam fenol testinin kolay, basit ve tekrar edilebilir olmasıdır. Dezavantaj; yöntemin standardizasyon yetersizliği, birkaç büyüklük derecesinde farklara neden olabilir. Nihai absorbans değerleri genellikle reaksiyona giren fenolik hidroksil gruplarının sayısı ile orantılıdır ve molekül yapısına bağlıdır. Kalibrasyon için kullanılan standart oldukça reaktiftir ve yüksek emiş sağlarsa, örneklerin ölçülen değerleri düşük olacaktır [50].

1.5.2. Bitkilerin Fenolik Bileşen İçerikleri ile İlgili Bazı Çalışmalar

Son yıllarda, doğal antioksidanlara olan ilginin arttığı ve daha sonra literatürde araştırılan sentetik antioksidanların doğal antioksidanların yerini almasının birçok yararı olabileceği ve doğal antioksidanlar üzerine yapılan araştırmaların çoğunun fenolik bileşikler üzerine yoğunlaştığı görülmüştür [51]. Sentetik antioksidanları kullanmak yerine bitkilerden türetilen doğal polifenolik antioksidanların elde edilmesi için yoğun çalışmalar bulunmaktadır [78].

2017 yılında yayınlanan bir çalışmaya göre *Funtumia africana* yaprakları, diyabet tedavisinde Nijerya Nijer Deltası bölgesi halkı tarafından kullanılmaktadır. Çalışmada, yaprak ham özütü ve fraksiyonlarının polifenolik içeriği, antioksidan ve serbest radikal süpürme aktivitelerini değerlendirilmiştir. Ekstre ve fraksiyonların değerleri, *F. africana* özütünün ve fraksiyonlarının fenolik ve flavonoid içerikler açısından çok zengin olduklarını doğrulamıştır. Bu çalışma sonucunda, fitokimyasal tarama, ekstrakte ve kutup fraksiyonlarında tanenler, saponinler, alkaloidler, terpenoidler, steroidler, indirgen şekerler, kardiyak glikozitler ve flavonoidlerin varlığını göstermiştir [79].

2016 yılında Hindistan'da yapılan bir çalışmada Arap geleneksel ilaç sisteminde, *C. spinosa* gastrointestinal problemler, hipertansiyon, strangury, inflamasyon, emmenagog, anemi, karaciğer fonksiyon bozukluğu, romatizma, damla damar, şeker hastalığı gibi çeşitli insan hastalıklarının tedavisinde kullanılır. Cins *Capparis* etno tıbbi önemi ile iyi bilinir. *C. moonii*, Amboli, Western Ghat (Hindistan) toplanan Wapt yaprakları ve kökün toplam fenol ve flavanoid içeriği belirlenmiştir. Bu çalışmada, çeşitli antioksidan deneyleri ile hekzan, kloroform, etilasetat, metanol ve *C. moonii* kökünün yapraklarının ve köklerinin antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Çeşitli antioksidan aktiviteleri farklı standart antioksidanlar ile karşılaştırılmış ve fenolik ve flavanoid içeriği antioksidan aktivite ile korelasyon göstermiştir [80].

2016 yılında ABD'de yapılan bir çalışmaya göre; Juneberry (*Amelanchier alnifolia*), Kuzey Amerika'nın Kuzey Great Plains genelinde bulunan ve yerli Amerikalılar tarafından şifalı bir bitki olarak yaygın olarak kullanılan yenilebilir meyvesi olan bir çalıdır. Bu çalışmada bitkinin Folin-Ciocalteu reaktifi ile toplam fenolik içeriği tannik asit eşdeğerleri olarak belirlenmiştir. Verilere göre, çeşitlerle yetiştirilenlerin aksine, vahşi doğada yetişen Juneberry'nin biyolojik olarak aktif sekonder metabolitleri açısından zengin olduğunu göstermektedir. Bu fikir, organik olarak yetiştirilen meyvelerdeki biyoaktif fitokimyasallar ve toplam fenollerin, ticari olarak yetiştirilen meyvelerden daha yüksek seviyede olduğunu bildiren çeşitli meyveler üzerinde yapılan benzer çalışmalarla uyumludur [81].

2016 yılında Türkiye'de yapılan bir çalışma ise *Echinops ritro* L. ve *Echinops tournefortii*'nin antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik içeriği değerlendirilmiştir. *E. ritro* ve *E. tournefortii*'nin kurutulmuş yaprak ve tohumları etanol, metanol, kloroform ve dH₂O ile ayrı ayrı özütlenmiştir. Toplam fenolik içerik Folin-Ciocalteu yöntemi ile ölçülmüş ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. dH₂O ekstraktının, zengin fenolik içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, *E. ritro* ve *E. tournefortii* özlerinin, gıda ve ilaç endüstrilerinde doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Çalışmada *Echinops* bitkisinin, alkaloidler, flavonoidler, terpenoidler, lipidler, steroidler ve poliasetilenler gibi çeşitli sınıflara ait çeşitli bileşiklere sahip olduğu belirtilmiştir [82].

1.6. ÇALIŞMANIN AMACI

Bu çalışmanın başlıca amacı, yöre halkı için gıda ve tıbbi tedavi amacıyla rutin olarak kullanılan bu bitkilerin önemlerinin ortaya çıkarılması ve özellikle doğal ve yaygın olarak yetişen bu bitkiler ile daha sonra yapılacak farmakolojik çalışmalara ışık tutmasıdır. Bu amaç doğrultusunda bu çalışmada; Hakkari ve çevresinde yayılış gösteren *Diplotaenia* sp. (Siyabo), *Chaerophyllum* sp. (Mende) ve *Arum* sp. (Kari) bitkilerinden etken madde eldesi maksadıyla sırasıyla hekzan, etanol ve aseton çözücülerini kullanarak aşamalı ekstraksiyon yapılması, elde edilen bitki ekstraktların; 5 gram (+) bakteri, 7 gram (-) bakteri ve 1 fungus olmak üzere 13 farklı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesi, elde edilen bitki ekstraktlarının ABTS ve DPPH radikal giderme aktivitesinin analizleri ile antioksidan aktivite özelliklerinin tespit edilmesi ve son olarak toplam fenolik bileşen analizlerinin yapılması hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN BİTKİ ÖRNEKLERİ

Çalışmada üç farklı tür bitki kullanıldı. Kullanılan bitkiler Nisan-Mayıs (2016) aylarında Hakkari, Yüksekova yerel halk pazarlarından satın alındı.

2.1.1. *Arum* sp. (Kari)

Araceae familyasında yer alan bitki, halk arasında Kari olarak bilinmektedir. Bölge iklimini ve yüksek rakımları seven Kari bitkisi halk açısından önemli bir tedavi ve gelir kaynağıdır. Çok yıllık bir bitki olan Kari tek eşeyli çiçeklere ve saplı yapraklara sahiptir. Bitki kurutularak tüketilmektedir. Hastalık ve zehirlenme durumlarında Kari ile yapılan yemeklere başvurulmakla birlikte, Kari özellikle bağırsak hastalıkları, ishal tedavisi ve kurtlanma gibi vakalarda halk tarafından kullanılmaktadır [83]. Kari bitkisinin görseli Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. *Arum* sp. (Kari).

2.1.2. *Diplotaenia* sp. (Siyabo)

Apiaceae familyasında yer alan bitki, halk arasında farklı isimlerle anılmakla birlikte yaygın olarak Siyabo ismi ile bilinmektedir. Yüksek rakımlı ve nemli alanları seven bitki bahar aylarında ticari öneme sahiptir. Yöre halkına göre bitki yılan zehirlenmelerinde panzehir özelliklidir, toprak üstü organları besin, kök kısımları tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca yöre halkı bitkinin kök kısmının çok eski dönemlerden beri romatizma, şeker hastalığı ve tansiyon dengeleyici olarak kullanıldığını belirtmiştir [83]. Siyabo bitkisinin görseli Şekil 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.2. *Diplotaenia* sp. (Siyabo).

2.1.3. *Chaerophyllum* sp. (Mende)

Apiaceae familyasında yer alan bitki, halk arasında yaygın olarak Mende ismi ile bilinmektedir. Yüksek rakımları, nemli habitatları seven bitki baharat veya sebze olarak kullanılmaktadır. Uzun yıllardır gıda kaynağı olarak kullanılan bitkinin, kurutulmuş yaprak ve sapları kaynatılarak ilaç olarak kullanıldığı, karın ağrısını ve gaz problemlerini giderdiği, göğüs ağrılarını azalttığı düşünülmektedir [83]. Mende bitkisinin görseli Şekil 2.3'de verilmiştir.



Şekil 2.3. *Chaerophyllum* sp. (Mende).

2.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN MİKROORGANİZMALAR

Antimikrobiyal aktivite testi çalışmalarında kullanılan mikroorganizmalar, Düzce Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Mikrobiyal Biyoteknoloji Laboratuvarı'ndan ve Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edildi. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve bazı özellikleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve bazı özellikleri.

Mikroorganizma	Kaynak	Türü	Zararları
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	Gram (+)	İnsanlarda menenjit, idrar yolu enfeksiyonları, endokardit ve bakteriyemi gibi hastalıklara neden olabilir [86].
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Gram (+)	Gıdalarda besin zehirlenmelerine yol açar. Çıban, sivilce, zatürree, menenjit gibi çok sayıda sistem ve organ enfeksiyonlarına neden olur. Kemoterapide kullanılan maddelerin birçoğuna karşı direnç kazanmıştır [87].
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228	Gram (+)	İntravasküler cihazlarla ilişkili enfeksiyonlara neden olur ancak aynı zamanda yaygın olarak protez eklemlerinde, kateterlerde ve büyük yaralarda da görülür. Ayrıca sepsis ve endokarditte <i>S. epidermidis</i> ile ilişkili hastalıklardır [88].
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028	Gram (-)	Et, süt, yumurta ve bunların türevlerine bulaşarak bulantı ve kusma ile başlayan enfeksiyonlara neden olur. Çeşitli yollardan vücuda geçerek bağırsaklardan kana geçebilir, böbrek, eklem, kemik, karaciğer, safra yolları ile farklı bölgelere yerleşebilir, yangı ve abselere neden olabilir [86].
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 13315	Gram (-)	İnsanlarda genellikle idrar yolları ve böbrek enfeksiyonlarına neden olur [87].
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	ATCC 911	Gram (-)	Hayvanlarda ve insanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olur [89].
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Gram (-)	Uygun şartlar altında yanık ve yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, göz enfeksiyonları ve bronşit gibi çeşitli hastalıklara yol açmaktadır [87].
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	Gram (-)	Literatür, bakteriyemi, menenjit, kan dolaşımı enfeksiyonu, sepsis, idrar yolu enfeksiyonu, septikemi, yara enfeksiyonu, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, santral sinir sistemi ve gastrointestinal sistem tanımlarıyla doludur [90].
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 35218	Gram (-)	İnce bağırsağa yerleştiğinde diyare, kalın bağırsağa yerleştiğinde dizanteriye neden olur. Bazı suşların toksini kana geçerek hemolitik üremik sendroma neden olur, böbreklerde ve kırmızı kan hücrelerinde hasara yol açar [86].
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	Gram (-)	İnsanların % 5 inin bağırsak florasında ve üst solunum yolu florasında yaşayabildiği için kolaylıkla hastalıklara neden olabilir [87].
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 7644	Gram (+)	Çiğ sebze, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri, iyi pişmemiş kırmızı et, tavuk, ve balık tüketen insanlarda enfeksiyona neden olabilir [86].
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Gram (+)	Bakterinin doğrudan doku ve göz içerisine girmesi sonucunda göz yangıları meydana getirebilir. Besin zehirlenmesine yol açtığı düşünülmektedir [87].
<i>Candida albicans</i>	ATCC 90028	Fungus	Belirli koşullar altında, cildin yüzeysel enfeksiyonlarından hayatı tehdit eden sistemik enfeksiyonlara kadar değişen enfeksiyonlara neden olabilir [91].

Çalışmada kullanılan bakteriler, Nutrient Broth (NB) ya da Nutrient Agar (NA); fungus ise Mueller Hinton Broth (MHB) ya da Mueller Hinton Agar (MHA) besiyortamları kullanılarak 16-18 saat 37 °C'de büyütüldü [84,85].

2.3. BİTKİ EKSTRAKTLARININ HAZIRLANMASI

Bu çalışmada taze olarak temin edilen, *Arum* sp. (Kari), *Diplotaenia* sp. (Siyabo) ve *Chaerophyllum* sp. (Mende) küçük parçalar haline getirilerek sıcaklığı 40 °C'nin altındaki kurutma fırınında kurutuldu ve öğütücü yardımıyla toz haline getirildi. Toz haline getirilen bitkiler sırasıyla hekzan, etanol ve aseton çözücülerini ile 1:10 oranında karıştırıldı ve ağızları kapalı erlenler içerisinde oda sıcaklığında 24 saat boyunca 150-170 rpm'de ekstraksiyona tabi tutuldu. Her ekstraksiyondan sonra dört kat süzgeç kağıdı kullanılarak soğuk süzme yapıldı. Soğuk süzmeden arta kalan bitki kalıntıları bir sonraki çözücüde kullanılmak üzere kurutuldu ve diğer çözücü ile tekrar oda sıcaklığında 24 saat boyunca 150-170 rpm'de ekstraksiyona tabi tutuldu. Elde edilen ekstraktlar sıcaklığı + 4 °C'de saklandı. Evaporasyon işlemi yaklaşık 30 °C'de 80-150 rpm de, vakum altında yapıldı. Evaporasyon sonrası elde edilen ekstraktların miktarları belirlendi ve ardından Dimetil Sülfoksit (DMSO, Merck)'de çözüldü ve daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere + 4 °C'de saklandı [92].

2.4. EKSTRAKTLARIN YÜZDE VERİM HESABI

Ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktların verimi Denklem (2.1)'deki % verim formülü kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ Verim} = [(w_2 - w_1) / w_0] \times 100 \quad (2.1)$$

w_0 = Kurutulmuş bitki örneğinin ilk ağırlığı,

w_1 = Kabın ağırlığı,

w_2 = Evaporasyondan sonra geriye kalan ekstraktın ağırlığını ifade etmektedir [93].

2.5. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ

Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite tayini agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak yapıldı [94]. Öncelikle test mikroorganizmalarının NB ve MHB besiyerine inokülasyonları yapıldı ve çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 16-18 saat inkübe edildi.

İnkübasyon süresi sonucunda mikroorganizma kültürlerinin spektrofotometrede (Mapada) 600 nm dalgaboyundaki absorbansları ölçüldü ve kültürler yaklaşık 1×10^7 - 1×10^8 CFU/ml olacak şekilde steril dH₂O ile seyreltilti. Seyreltilerek hazırlanan mikroorganizma içerikli örneklerin 100 µl'si MHA besiyeri içerikli petrilere eküvyon çubuğu ile yayıldı. Ardından mikroorganizma içerikli MHA besiyeri üzerine kuyu açıldı. Açılan herbir kuyuya hekzan, etanol ve aseton ekstraktlarından 100'er µl eklendi. Pozitif kontrol olarak antibiyotik (Streptomisin, 10 µg/disk) ve negatif kontrol olarak DMSO kullanıldı. Çalışmalar iki kez tekrarlandı [95].

2.6. ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

2.6.1. DPPH Radikali Giderme Aktivitesi

DPPH radikali giderme aktivite tayini Brand-Williams ve arkadaşlarına göre, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali kullanılarak yapıldı [96]. Çalışmada DPPH radikalinin metanol çözeltisi taze olarak hazırlandı. 20-100 µg/ml konsantrasyonlarında hazırlanan bitki ekstraktlarının 750 µl'sine 1500 µl DPPH çözeltisi eklendi. Spektrofotometrede 517 nm'de 30. dakikadaki absorbans değerleri ölçüldü. Pozitif kontrol (standart) olarak Bütil hidroksianisol (BHA, 2-14 µg/ml, Aldrich) kullanıldı. Negatif kontrol olarak 750 µl metanol ile 1500 µl DPPH karışımı, kör olarak ise metanol kullanıldı [97]. Çalışmalar iki kez tekrarlandı.

DPPH radikal giderme aktivitesi Denklem (2.2) kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (2.2)$$

A_0 = Negatif Kontrolün Absorbans Değeri,

A_1 = Standart ve Numunenin Absorbans Değeri [97].

2.6.2. ABTS Radikali Giderme Aktivitesi

ABTS radikali giderme aktivite tayini, Miller ve arkadaşları tarafından raporlanmış, Re ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş metoda göre, ABTS (2,2-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) serbest radikali kullanılarak yapıldı [98]. Bu çalışmada öncelikle, 7,4 mM ABTS radikali 1 ml dH₂O'da çözüldü. Üzerine 1 ml 2,6 mM potasyum peroksodisülfat (K₂O₈S₂) çözeltisi eklenerek oda sıcaklığında 12- 16 saat karanlıkta bekletildi. Bu sürenin sonunda karışımın 1 ml'sine 60 ml metanol ilave edildi. Elde edilen çözeltinin absorbansı spektrofotometrede 734 nm'de metanole karşı okundu.

Her çalışma için karışım taze olarak hazırlandı. Hazırlanan metanollü ABTS çözeltisinden 2800 µl alınarak üzerine farklı (500-2500 µg/ml) konsantrasyonlardaki bitki ekstraktlarından 150 µl eklendi. Hazırlanan örnekler iki saat karanlık ortamda bekletildi. İki saat sonunda spektrofotometrede 734 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Kör olarak metanol, standart olarak Troloks (500-2500 µg/ml, Aldrich) kullanıldı [97]. Çalışmalar iki tekrarlı olarak yapıldı.

ABTSradikal giderme aktivitesi Denklem (2.3) kullanılarak hesaplandı.

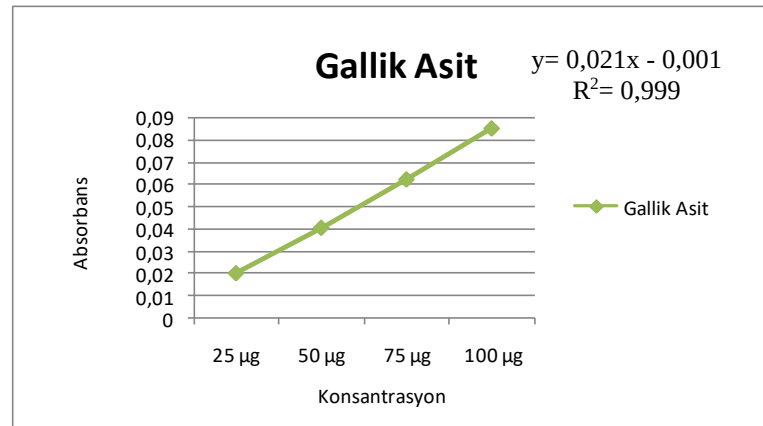
$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100 \quad (2.3)$$

A_0 = Negatif Kontrolün Absorbans Değeri,

A_1 = Standart ve Numunenin Absorbans Değeri [97].

2.7. TOPLAM FENOLİK BİLEŞEN ANALİZİ

Arum sp. (Kari), *Diplotaenia* sp. (Siyabo) ve *Chaerophyllum* sp. (Mende) bitkilerinden elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşen miktarının belirlenmesinde Folin-Ciocalteu reaktifi kullanıldı [98]. Çalışmada ekstraktların gallik asit standardına karşılık gelen fenolik bileşen miktarları belirlendi [99]. Gallik asit standardının absorbans grafiği Şekil 2.4'de verildi.



Şekil 2.4. Gallik asit standardının absorbans grafiği.

Standardın 1:1 oranında (25 mg gallik asit 25 ml dH₂O'da çözöldü) stok çözöltöleri hazırlanarak bu stoktan 25-100 µg/ml konsantrasyonlarında çözöltöler hazırlandı. Hazırlanan bu çözöltölerden 100 µl alınarak üzerine 4500 µl dH₂O eklendi. Daha sonra 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi konuldu. 3 dakika sonra sırasıyla % 2'lik Na₂CO₃

3. BULGULAR

Yapılan çalışmalar sonucunda, *Arum* sp. (Kari), *Diplotaenia* sp. (Siyabo) ve *Chaerophyllum* sp. (Mende) bitkilerinin, aşamalı olarak öncelikle hekzan, ardından etanol ve aseton çözücülerini kullanılarak ekstraksiyonu yapıldı. Elde edilen dokuz ekstraktın sırasıyla yüzde verim oranları, antioksidan aktivite özellikleri, antimikrobiyal aktivite özellikleri ve total fenol içerik analizleri gerçekleştirildi.

3.1. EKSTRAKTLARIN YÜZDE VERİMLERİ

Bitkilerden elde edilen ekstraktların % verimleri Çizelge 3.1'de verildi. Verimler w/w şeklinde gösterildi.

Çizelge 3.1. Bitki ekstraktlarının yüzde verim değerleri.

Bitki Örnekleri	Ekstrakt	% Ekstrakt Verimi (w/w)
<i>Arum</i> sp.	Hekzan	2,2056
	Etanol	10,4011
	Aseton	0,8422
<i>Diplotaenia</i> sp.	Hekzan	2,1205
	Etanol	3,5972
	Aseton	0,3253
<i>Chaerophyllum</i> sp.	Hekzan	1,2565
	Etanol	2,4898
	Aseton	0,3510

En yüksek verimin *Arum* sp. bitkisinin etanol ekstraktında (% 10,4011), en düşük verimin ise *Diplotaenia* sp. bitkisinin aseton ekstraktında (% 0,3253) olduğu belirlendi.

Test bitkilerinin hepsi içinmaksimum ekstrakt verimleri etanol ekstraktlarında (AspE % 10,4011; DspE % 3,5972; CspE % 2,4898), minimum ekstrakt verimleri ise aseton ekstraktlarında (AspA % 0,8422; DspA % 0,3253; CspA % 0,3510) görüldü. Hekzan ekstraktlarında görülen verim ise AspH % 2,2056; DspH % 2,1205; CspH % 1,2565 şeklinde tespit edildi.¹

3.2. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE ANALİZİ

Agar kuyu difüzyon yöntemi ile bitki ekstraktlarının, *E. cloacea*, *E. faecalis*, *S. typhimirium*, *S. epidermidis*, *P. vulgaris*, *Y. pseudotuberculosis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *C. albicans* test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlendi. *Arum* sp. bitkisinin hekzan ekstraktının *E. cloaceae*, *S. typhimirium*, *S. epidermidis*, *P. vulgaris*, *Y. pseudotuberculosis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *E. coli* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı, bitkinin etanol ve aseton ekstraktlarının ise test mikroorganizmalarının tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlendi. *Arum* sp. bitkisinin hekzan, etanol ve aseton ekstraktlarının en yüksek inhibisyon zonlarını *K. pneumoniae* (AspH 22,0 mm; AspE 25,0 mm; AspA 23,5 mm), *Y. pseudotuberculosis* (AspH 17,0 mm; AspE 17,0 mm; AspA 18,5 mm), *S. epidermidis* (AspH 17,5 mm; AspE 18,5 mm; AspA 17,5 mm) ve *C. albicans* (AspH 24,5 mm; AspE 19,0 mm; AspA 19,0 mm) mikroorganizmalarına karşı gösterdiği belirlendi. Ayrıca bitkinin hekzan ve aseton ekstraktları *S. typhimirium*'a (AspH 24,0 mm; AspA 21,0 mm) ve *Arum* sp. bitkisinin hekzan ekstraktının *E. cloaceae*'e (AspH 20,5 mm) karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği görüldü. Aseton ekstraktı ayrıca *E. faecalis*'e (AspA 17,5 mm) karşı ve etanol ekstraktı *L. monocytogenes* (AspE 19,0 mm) ve *S. aureus*'a (AspE 17,5 mm) karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlendi. *Arum* sp.'nin tüm ekstraktlarında *E. coli*'ye (AspH 5,5 mm; AspE 6,5 mm; AspA 5,5 mm) karşı düşük antimikrobiyal aktivite gözlemlendi. Ayrıca *P. aeruginosa*'nın etanol ekstraktında (AspE 6,5 mm) ve aseton ekstraktında (AspA 5,5 mm) ve *E. cloaceae*'nin etanol ekstraktında (AspE 9,0 mm) düşük antimikrobiyal aktivite tespit edildi.

¹ AspH= *Arum* sp. Hekzan Ekstraktı, AspE= *Arum* sp. Etanol Ekstraktı, AspA= *Arum* sp. Aseton Ekstraktı, DspH= *Diplotaenia* sp. Hekzan Ekstraktı, DspE= *Diplotaenia* sp. Etanol Ekstraktı, DspA= *Diplotaenia* sp. Aseton Ekstraktı, CspH= *Chaerophyllum* sp. Hekzan Ekstraktı, CspE= *Chaerophyllum* sp. Etanol Ekstraktı, CspA= *Chaerophyllum* sp. Aseton Ekstraktı, BHA= Bütil Hidroksianisol(Standart)

Arum sp. bitkisi ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite zonları ile pozitif ve negatif kontrollerin test mikroorganizmalarına etkileri Çizelge 3.2’de gösterildi.

Çizelge 3.2. *Arum* sp. bitki ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine etkisi.

Mikroorganizma	Ekstrakt / İnhibisyon zonu (mm)				
	Hekzan	Etanol	Aseton	P.K.	N.K.
<i>E. faecalis</i>	-	12,5	17,5	-	-
<i>S. typhimurium</i>	24,0	13,0	21,0	22,0	-
<i>K. pneumoniae</i>	22,0	25,0	23,5	22,5	-
<i>E. coli</i>	5,5	6,5	5,5	14,0	-
<i>P. vulgaris</i>	15,5	15,0	15,5	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	-	19,0	16,5	-	-
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	17,0	17,0	18,5	21,5	-
<i>P. aeruginosa</i>	16,0	6,5	5,5	16,0	-
<i>S. epidermidis</i>	17,5	18,5	17,5	6,0	-
<i>S. aureus</i>	14,5	17,5	13,5	12,5	-
<i>E. cloaceae</i>	20,5	9,0	11,5	-	-
<i>B. subtilis</i>	14,5	14,5	15,0	19,0	-
<i>C. albicans</i>	24,5	19,0	19,0	-	-

Diplotaenia sp. bitkisi için ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite zonları Çizelge 3.3’de gösterildi.

Çizelge 3.3. *Diplotaenia* sp. bitki ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine etkisi.

Mikroorganizma	Ekstrakt / İnhibisyon zonu (mm)				
	Hekzan	Etanol	Aseton	P.K.	N.K.
<i>E. faecalis</i>	9,5	23,5	20	-	-
<i>S. typhimurium</i>	21,0	22,5	24,5	22,0	-
<i>K.pneumoniae</i>	22,0	32,0	27,0	22,5	-
<i>E. coli</i>	5,0	22,5	17,0	14,0	-
<i>P. vulgaris</i>	15,5	19,5	15,5	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	19,0	22,0	20,0	-	-
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	17,5	24,0	18,5	21,5	-
<i>P.aeruginosa</i>	17,0	22,5	17,5	16,0	-
<i>S. epidermidis</i>	19,0	20,5	21,5	6,0	-
<i>S. aureus</i>	16,0	23,5	19,0	12,5	-
<i>E. cloaceae</i>	18,5	23,5	23,5	-	-
<i>B. subtilis</i>	16,0	18,5	18,5	19,0	-
<i>C. albicans</i>	26,5	23,0	23,5	-	-

Diplotaenia sp. bitkisinin etanol ekstraktı (DspE) mikroorganizmaların tamamına (*E. faecalis* 23,5 mm; *E. cloacea* 23,5 mm; *S. typhimurium* 22,5 mm; *E. coli* 22,5 mm; *P. vulgaris* 19,5 mm; *S. epidermidis* 20,5 mm; *Y. pseudotuberculosis* 24,0 mm; *S. aureus* 23,5 mm; *P. aeruginosa* 22,5 mm; *K. pneumoniae* 32,0 mm; *L. monocytogenes* 22,0 mm; *B. subtilis* 18,5 mm ve *C. albicans* 23,0 mm), aseton ekstraktı (DspA) *E. faecalis* (20,0 mm), *E. cloacea* (23,5 mm), *S. typhimurium* (24,5 mm), *E. coli* (17,0 mm), *S.*

epidermidis (21,5 mm), *Y. pseudotuberculosis* (18,5 mm), *S. aureus* (19,0 mm), *P. aeruginosa* (17,5 mm), *K. pneumoniae* (27,0 mm), *L. monocytogenes* (20,0 mm), *B. subtilis* (18,5 mm) ve *C. albicans* (23,5 mm)'a karşı, bitkinin hekzan ekstraktı ise test mikroorganizmalarından *E. cloacea* (18,5 mm), *S. typhimurium* (21,0 mm), *S. epidermidis* (19,0 mm), *Y. pseudotuberculosis* (17,5 mm), *P. aeruginosa* (17,0 mm), *K. pneumoniae* (22,0 mm), *L. monocytogenes* (19,0 mm) ve *C. albicans* (26,5 mm)'a karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlendi. *Diplotaenia* sp. bitkisinin aseton ekstraktı *P. vulgaris*'e karşı nispeten düşük (15,5 mm) inhibisyon zonu gösterdi. *Diplotaenia* sp. bitkisinin hekzan ekstraktında (DspH); *P. vulgaris* (15,5 mm), *S. aureus* (16,0 mm) ve *B. subtilis*'a (16,0 mm) karşı nispeten düşük inhibisyon zonu tespit edildi. Hekzan ekstraktının minimum inhibisyon zon çapları ise *E. faecalis* (9,5 mm) ve *E. coli*'ye (5,0 mm) karşı oluşturduğu gözlemlendi.

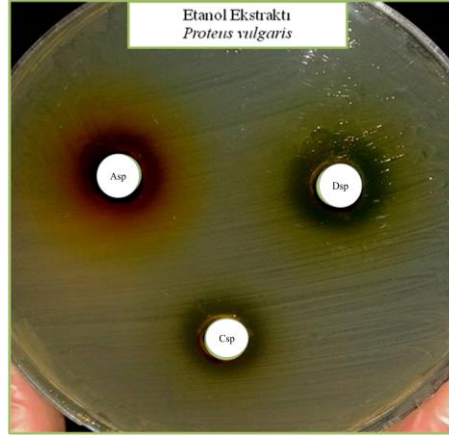
Chaerophyllum sp. bitkisinin ise her üç ekstraktında *S. typhimurium* (CspH 21,5 mm; CspE 20,0 mm; CspA 23,0 mm), *K. pneumoniae* (CspH 20,5 mm; CspE 24,0 mm; CspA 24,0 mm), *Y. pseudotuberculosis* (CspH 18,5 mm; CspE 19,0 mm; CspA 18,0 mm) ve *C. albicans*'a (CspH 26,0 mm; CspE 20,5 mm; CspA 20,0 mm) karşı yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Ayrıca *Chaerophyllum* sp. bitkisinin hekzan ekstraktı *E. coli* (CspH 18,5 mm), *Y. pseudotuberculosis* (CspH 18,5 mm) ve *E. cloaceae* (CspH 19,0 mm)'e; etanol ekstraktı *E. faecalis* (CspE 21,0 mm), *L. monocytogenes* (CspE 21,5 mm), *S. epidermidis* (CspE 22,5 mm) ve *S. aureus*'a (CspE 19,0 mm) ; aseton ekstraktı ise *E. faecalis* (CspA 18,0 mm) ve *B. subtilis*'a (CspA 17,0 mm) karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdi. Nispeten düşük inhibisyon zonları hekzan ekstraktında (CspH) *P. vulgaris* (15,0 mm), *P. aeruginosa* (16,5 mm), *S. epidermidis* (11,5 mm), *S. aureus* (13,0 mm) ve *B. subtilis* (14,0 mm)'a; etanol ekstraktında *E. coli* (16,5 mm), *P. vulgaris* (14,0 mm) ve *B. subtilis* (13,5 mm)'e; aseton ekstraktında ise *E. coli* (16,5 mm), *P. vulgaris* (14,0 mm), *L. monocytogenes* (11,5 mm), *P. aeruginosa* (16,5 mm), *S. epidermidis* (12,0 mm), *S. aureus* (12,5 mm) ve *E. cloaceae* (13,0 mm)'e karşı gözlemlendi. En düşük inhibisyon zonları hekzan ekstraktında *E. faecalis* (CspH 7,5 mm) ve *L. monocytogenes*'e (CspH 7,0 mm), etanol ekstraktında ise *P. aeruginosa* (CspE 6,5 mm) ve *E. cloaceae*'e (CspE 8,0 mm) karşı görüldü. Aseton ekstraktında ise düşük antimikrobiyal aktivite gözlemlenmedi.

Chaerophyllum sp. bitkisi için ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite zonları Çizelge 3.4'de gösterildi.

Çizelge 3.4. *Chaerophyllum* sp. bitki ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine etkisi.

Mikroorganizma	Ekstrakt / İnhibisyon zonu (mm)				
	Hekzan	Etanol	Aseton	P.K.	N.K.
<i>E. faecalis</i>	7,5	21,0	18,0	-	-
<i>S. typhimirium</i>	21,5	20,0	23,0	22,0	-
<i>K. pneumoniae</i>	20,5	24,0	24,0	22,5	-
<i>E. coli</i>	18,5	16,5	16,5	14,0	-
<i>P. vulgaris</i>	15,0	14,0	14,0	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	7,0	21,5	11,5	-	-
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	18,5	19,0	18,0	21,5	-
<i>P. aeruginosa</i>	16,5	6,5	16,5	16,0	-
<i>S. epidermidis</i>	11,5	22,5	12,0	66,0	-
<i>S. aureus</i>	13,0	19,0	12,5	12,5	-
<i>E. cloaceae</i>	19,0	8,0	13,0	-	-
<i>B. subtilis</i>	14,0	13,5	17,0	19,0	-
<i>C. albicans</i>	26,0	20,5	20,0	-	-

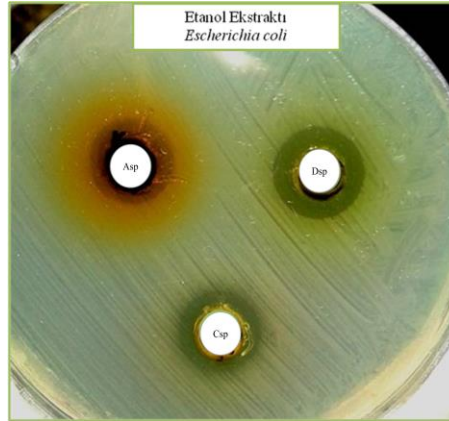
Arum sp. (Kari), *Diplotaenia* sp. (Siyabo) ve *Chaerophyllum* sp. (Mende) bitkilerinin, bitki ekstraktlarının bazı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7, Şekil 3.8, Şekil 3.9, Şekil 3.10, Şekil 3.11 ve Şekil 3.12'de verilmiştir.



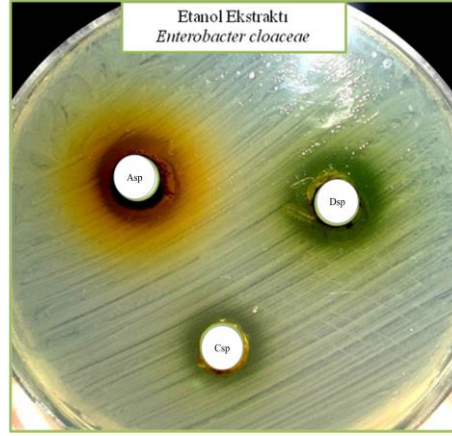
Şekil 3.1. Etanol ekstraktlarının *P. vulgaris*'e karşı inhibisyon aktivitesi.



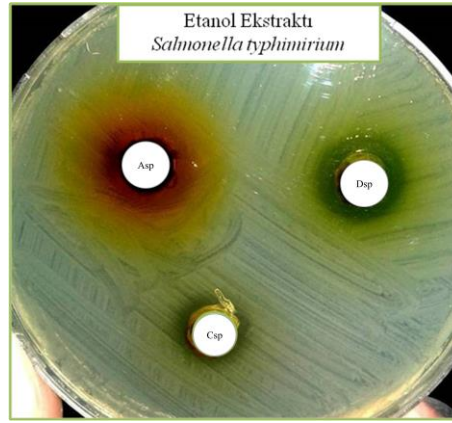
Şekil 3.2. Etanol ekstraktlarının *Y. pseudotuberculosis*'e karşı inhibisyon aktivitesi.



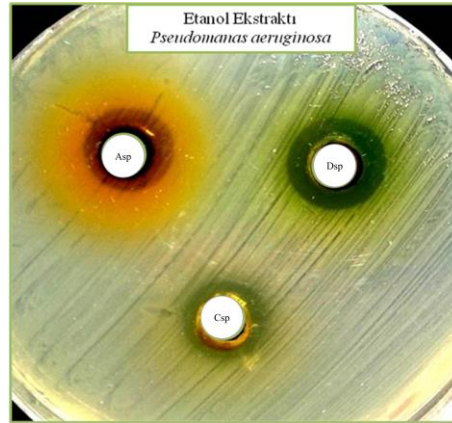
Şekil 3.3. Etanol ekstraktlarının *E. coli*'ye karşı inhibisyon aktivitesi.



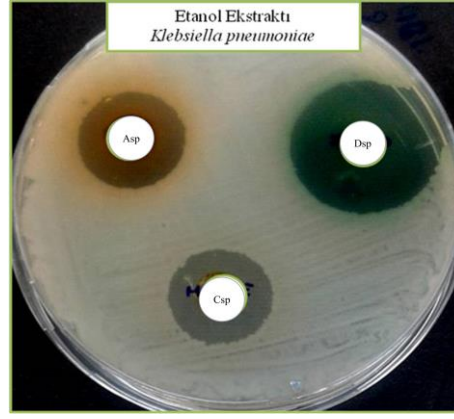
Şekil 3.4. Etanol ekstraktlarının *E. cloacae*'ye karşı inhibisyon aktivitesi.



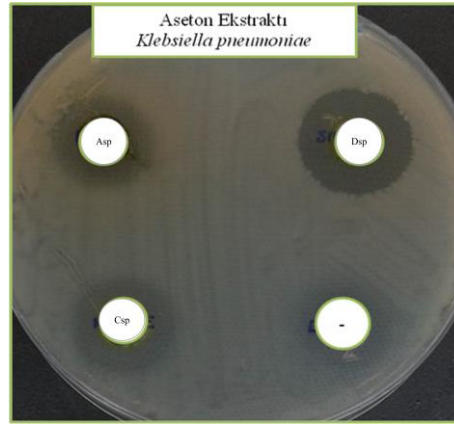
Şekil 3.5. Etanol ekstraktlarının *S. typhimurium*'a karşı inhibisyon aktivitesi.



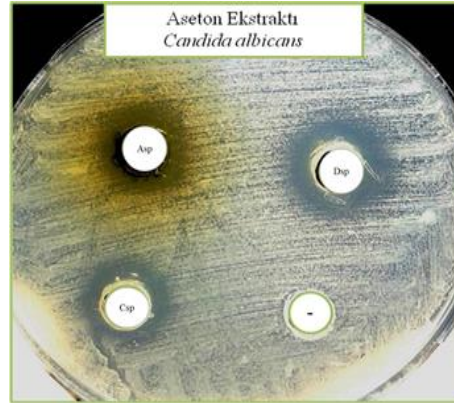
Şekil 3.6. Etanol ekstraktlarının *P. aeruginosa*'ya karşı inhibisyon aktivitesi.



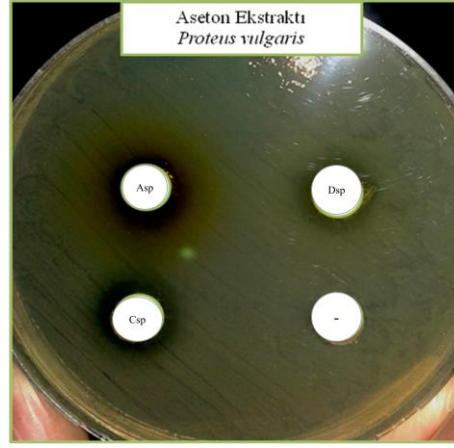
Şekil 3.7. Etanol ekstraktlarının *K. pneumoniae*'ye karşı inhibisyon aktivitesi.



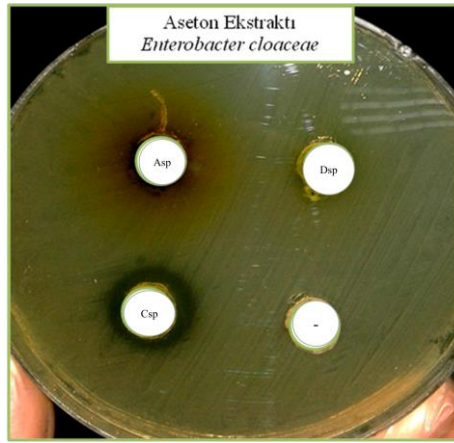
Şekil 3.8. Aseton ekstraktlarının *K. pneumoniae*'ye karşı inhibisyon aktivitesi.



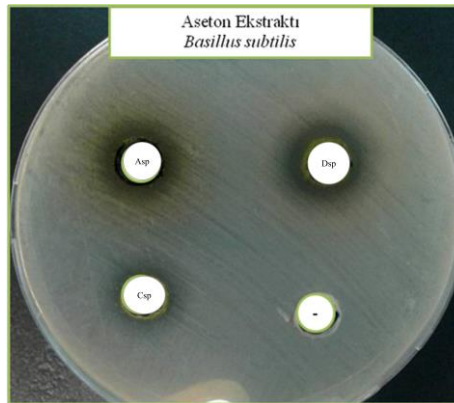
Şekil 3.9. Aseton ekstraktlarının *C. albicans*'a karşı inhibisyon aktivitesi.



Şekil 3.10. Aseton ekstraktlarının *P. vulgaris*'e karşı inhibisyon aktivitesi.



Şekil 3.11. Aseton ekstraktlarının *E. cloacae*'ye karşı inhibisyon aktivitesi.



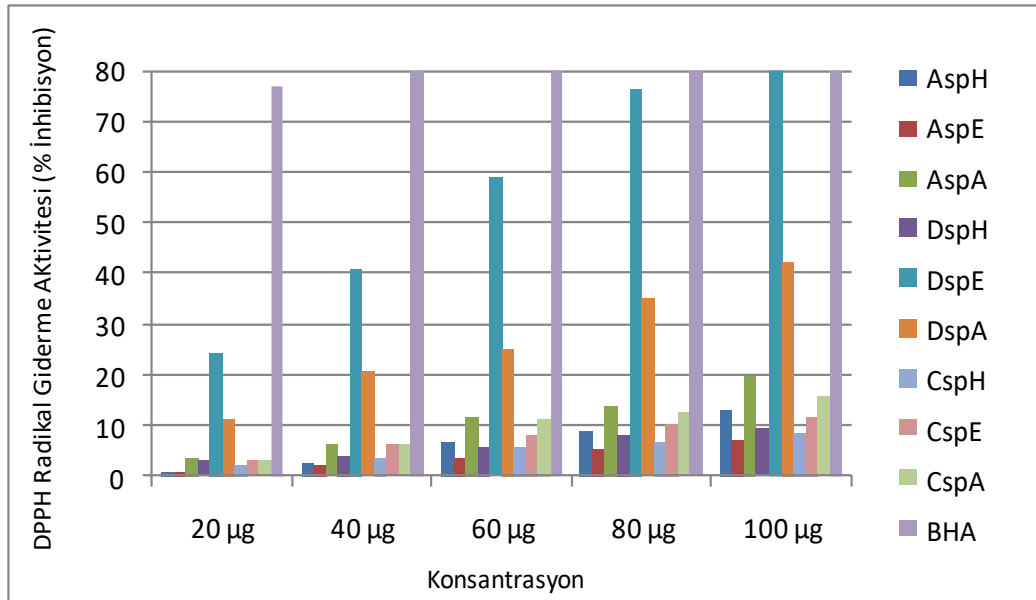
Şekil 3.12. Aseton ekstraktlarının *B. subtilis*'e karşı inhibisyon aktivitesi.

3.3. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ANALİZİ

3.3.1. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi

Çalışmada *Arum* sp. (Kari), *Diplotaenia* sp. (Siyabo) ve *Chaerophyllum* sp. (Mende) bitkilerinin, hekzan, etanol ve aseton ekstraktlarının DPPH radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak değerlendirildi ve sonuçlar sentetik antioksidan BHA'nın DPPH radikal giderme aktivitesi ile karşılaştırıldı.

Test bitkilerinin DPPH radikal giderme aktiviteleri ve standart BHA ile karşılaştırılması Şekil 3.13'de % inhibisyon olarak gösterildi. Tüm bitkilerin kontrole karşı DPPH radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak değerlendirildiğinde kontrol ve ekstraktların aktivite sıralamasının; BHA> DspE> DspA> AspA> CspA> AspH> CspE> CspH> AspE> CspH şeklinde olduğu görüldü. % İnhibisyon verilerine göre; standart BHA'ya en yakın DPPH radikal giderme aktivitesi *Diplotaenia* sp. bitkisinin etanol ekstraktında görüldü.



Şekil 3.13. Bitki ekstraktlarının ve standardın DPPH radikal giderme aktiviteleri.

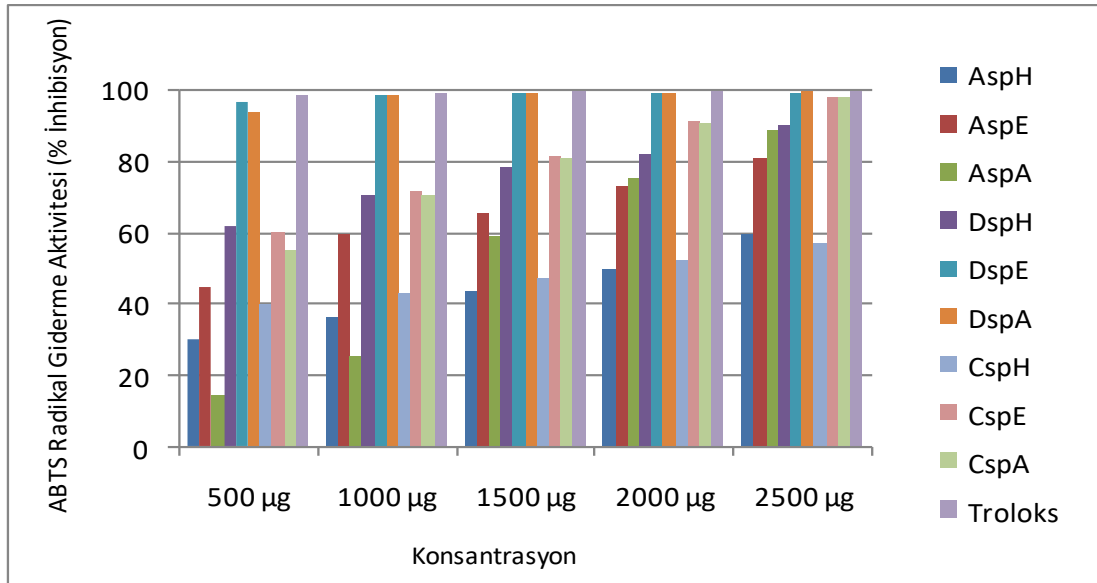
Aynı zamanda, Şekil 3.13'e göre ekstraktların kendi aralarında DPPH radikal giderme aktivitelerine bakacak olursak; *Arum* sp. bitkisi için sıralama aseton> hekzan> etanol; *Diplotaenia* sp. bitkisi için sıralama etanol> aseton> hekzan; *Chaerophyllum* sp. bitkisi için sıralama aseton> etanol> hekzan şeklinde olduğu görüldü.

Standart BHA, *Arum* sp., *Diplotaenia* sp. ve *Chaerophyllum* sp. bitki ekstraktlarının % inhibisyon olarak belirlenen DPPH radikal giderme aktivite grafikleri kullanılarak tüm

örneklerin IC_{50} değeri belirlendi. Bitkilerin IC_{50} değerleri 20-100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında belirlenirken, BHA IC_{50} değeri 2-14 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyon aralığı kullanılarak saptandı. *Arum* sp. bitkisinin hekzan ekstraktının 17,2355 $\mu\text{g/ml}$, etanol ekstraktının 31,5686 $\mu\text{g/ml}$, aseton ekstraktının 12,7876 $\mu\text{g/ml}$; *Diplotaenia* sp. bitkisinin hekzan ekstraktının 29,1974 $\mu\text{g/ml}$, etanol ekstraktının 2,5234 $\mu\text{g/ml}$, aseton ekstraktının 6,0075 $\mu\text{g/ml}$; *Chaerophyllum* sp. bitkisinin hekzan ekstraktının 32,4140 $\mu\text{g/ml}$ etanol ekstraktının 22,9518 $\mu\text{g/ml}$ aseton ekstraktının 15,6458 $\mu\text{g/ml}$ BHA kontrol 4,3967 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplandı. Toplam grafik % inhibisyon verilerine göre BHA'nın DPPH radikal giderme aktivitesine en yakın IC_{50} değeri değeri, *Diplotaenia* sp. bitkisinin etanol ekstraktında 2,5234 $\mu\text{g/ml}$ olarak görüldü. Standart olarak kullanılan BHA'ya en uzak IC_{50} değeri ise 32,4140 $\mu\text{g/ml}$ olarak *Chaerophyllum* sp. bitkisinin hekzanekstraktında belirlendi.

3.3.2. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi

Çalışmada *Arum* sp., *Diplotaenia* sp. ve *Chaerophyllum* sp. bitkilerinin, hekzan, etanol ve aseton ekstraktlarının ABTS radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak değerlendirildi ve sonuçlar sentetik antioksidan olan Troloks'un ABTS radikal giderme aktivitesi ile % inhibisyon olarak karşılaştırıldı. ABTS % inhibisyon grafiği Şekil 3.14'de verildi.



Şekil 3.14. Bitki ekstraktlarının ve standardın ABTS radikal giderme aktiviteleri.

Toplam grafik % inhibisyon verilerine göre ekstraktlar Troloks'a yakın ABTS radikal giderme aktivitesi gösterdi. Tüm bitkilerin kontrole karşı ABTS radikal giderme

aktiviteleri Şekil 3.14'e göre değerlendirildiğinde kontrol ve ekstraktların aktivite sıralamasının; Troloks > DspE> DspA> CspE> DspH> CspA> AspE> AspA> AspH> CspH şeklinde olduğu görüldü.

Ekstraktların kendi aralarında ABTS radikal giderme aktivitelerine bakacak olursak; *Arum* sp. bitkisi için sıralama etanol> aseton> hekzan; *Diplotaenia* sp. bitkisi için etanol> aseton> hekzan, *Chaerophyllum* sp. bitkisi için etanol> aseton> hekzan şeklindedir.

Standart Troloks ile *Arum* sp., *Diplotaenia* sp. ve *Chaerophyllum* sp. bitki ekstraktlarının ABTS radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak belirlendi.

Çalışma sonucunda bitki ekstraktlarının IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. *Arum* sp. bitkisinin hekzan ekstraktının 3,8483 µg/ml etanol ekstraktının 1,2893 µg/ml aseton ekstraktının 2,8793 µg/ml *Chaerophyllum* sp. bitkisinin hekzan ekstraktının 8,2535 µg/ml aseton ekstraktının 0,2744 µg/ml olarak hesaplanmış olup, diğer ekstraktların aktiviteleri konsantrasyonları yüksek olması sebebi ile hesaplanamamıştır.

3.4. TOPLAM FENOLİK BİLEŞEN ANALİZİ

3.4.1. Folin-Ciocalteu Ayırıcı (FCR) ile Toplam Fenolik Bileşen Analizi

Ekstrelerin toplam fenolik bileşen miktarları, deneysel kısımda verilen yöntemler kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlendi. Bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşen içerikleri Gallik asit ekivalenti (GAE, µg/ml) olarak ifade edildi.

Arum sp. için hekzan ekstraktının toplam fenolik bileşen içeriği $20,36 \pm 0,199$ µg/ml; etanol ekstraktı için $54,60 \pm 0,486$ µg/ml; aseton ekstraktı için $12,68 \pm 0,092$ µg/ml şeklinde belirlendi. *Diplotaenia* sp. için hekzan ekstraktının toplam fenolik bileşen içeriği $43,59 \pm 0,657$ µg/ml; etanol ekstraktı için $55,36 \pm 0,035$ µg/ml; aseton ekstraktı için ise $16,29 \pm 0,006$ µg/ml şeklindedir. *Chaerophyllum* sp. için hekzan ekstraktının toplam fenolik bileşen içeriği $9,44 \pm 0,015$ µg/ml; etanol ekstraktı için $15,33 \pm 0,004$ µg/ml; aseton ekstraktı için $3,47 \pm 0,001$ µg/ml şeklinde olduğu tespit edildi. Bitkiler kendi içinde kıyaslandığında ekstraktların toplam fenolik madde içeriklerinin *Arum* sp. için AspE ($54,60 \pm 0,486$ µg/ml)> AspH ($20,36 \pm 0,199$ µg/ml)> AspA ($12,68 \pm 0,092$ µg/ml), *Diplotaenia* sp. için DspE ($55,36 \pm 0,035$ µg/ml)> DspH ($43,59 \pm 0,657$ µg/ml)> DspA ($16,29 \pm 0,006$ µg/ml), *Chaerophyllum* sp. için CspE ($15,33 \pm 0,004$

$\mu\text{g/ml}$)> CspH ($9,44 \pm 0,015 \mu\text{g/ml}$)> CspA ($3,47 \pm 0,001 \mu\text{g/ml}$) şeklinde olduğu görüldü. Bitkilerin fenolik bileşen içerik değeri Çizelge 3.5'de verildi.

Çizelge 3.5. Bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşen miktarlarının gallik asit ekivalenti olarak değeriendirilmesi.

Bitki	Hekzan Ekstraktı ($\mu\text{g/ml}$)	Etanol Ekstraktı ($\mu\text{g/ml}$)	Aseton Ekstraktı ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Arum</i> sp.	$20,36 \pm 0,199$	$54,60 \pm 0,486$	$12,68 \pm 0,092$
<i>Diplotaenia</i> sp.	$43,59 \pm 0,657$	$55,36 \pm 0,035$	$16,29 \pm 0,006$
<i>Chaerophyllum</i> sp.	$9,44 \pm 0,015$	$15,33 \pm 0,004$	$3,47 \pm 0,001$

4. TARTIŞMA

Tıbbi bitkiler; Dünya'da yaklaşık yarım milyon bitkinin bulunması, çoğu bitkinin tıbbi faaliyetlerinin henüz araştırılmıyor oluşu ve bitkilerin tıbbi faaliyetlerinin günümüzde yapılan veya gelecekte yapılacak olan çalışmaların tedavisinde belirleyici olabilmesi nedeniyle gelecek vaad etmektedir [100].

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler uzun zamandır besin ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Ülkemizin üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güneybatı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun kökenlerinin ve farklılaşım merkezinin oluşu ve endemizmin yüksek oluşu bitkisel zenginliğimizin kaynaklarıdır. Ülkemizde 9000'e yakın farklı bitki türü vardır. Bu bitkilerin %30'u endemiktir. Buna rağmen bu bitki zenginliğinden yeterince yarar sağlanılamamaktadır [16].

Doğu Anadolu Bölgesi, yaklaşık 170 bin km²'lik yüzölçümü ile ülkemizdeki en büyük bölge olma özelliğini taşımaktadır. Doğu Anadolu bölgesi Irak, İran, Nahcivan, Ermenistan ve Gürcistan ülkeleri ile sınır oluşturmakta ve İran Turan fitocoğrafik bölgesinde yer almaktadır. Bölgenin 3000 üzerinde bitki türüne sahip olması ve endemizminin %25 olması gibi nedenlerle ülkemizin en zengin bölgelerinin başında yer alır. Coğrafi koşullar, köylerin şehir merkezlerinden uzak oluşu, soğuk ve uzun geçen kış ayları sebebiyle bitkilerle tedavi bugün de oldukça yaygındır [101].

Doğu Anadolu Bölgesi sınırlarında yer alan Hakkâri ili İran-Turan floristik alan içerisinde kalmakta ve bitki çeşitliliği bakımından zengin bir özellik göstermektedir. Hakkari'de yaşayan yöre halkı, köklü bir tarihten bu yana yabani bitkilere yönelmiş ve bu bitkilerden özellikle beslenme ve tıbbi amaçlar doğrultusunda yararlanmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda, yöre halkı tarafından özellikle tıbbi ve gıda amaçlı toplanarak kullandıkları yüksek kesimlerinde yayılış gösteren Siyabo (*Diplotaenia* sp.), Mende (*Chaerophyllum* sp.) ve Kari (*Arum* sp.) bitkilerinin halk tarafından önemli bitki türleri arasında yer aldıkları tespit edilmiştir [83]. Bu bitkiler besin ve özellikle tedavi aracı kullanımı yoğun olan, bu nedenle bölge halkı için ticaret kaynağı haline gelmiştir.

Doğu Anadolu bölgesinde yayılış gösteren yöresel isimleri ile Mende, Sinirli Ot, Tolk Civanperçemi, Hingedan, Işgın, Kari, Heliz, Siyabo gibi bitkiler bazı bilim insanlarının dikkatini çekmiş ve özellikle Van ve çevresinde yer alan otlu peynir yapımında kullanılan bitkilerin bazı biyolojik özellikleri incelenmiştir.

Van'da 2005 yılında yapılan bir çalışmada, otlu peynire katılan otlardan *Chaerophyllum crinitum* Boiss. (mendo), ve *Ferula rigidula* DC. (siyabu)'nın bazı patojen bakteriler üzerindeki inhibitör etkinliği araştırılmıştır. Örneklerin dietil eter ekstraktları *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde disk difüzyon yöntemi ile *in vitro* olarak denenmiştir. Sonuç olarak, Mendo *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* üzerinde etkili olurken, en zayıf inhibitör aktivite Siyabu'da gözlemlenmiştir [102].

Literatür verilerine göre 2005 yılında Van'da yapılan bir başka çalışmada ise *Ferrula* sp. (siyabo) bitkisinin otlu peynire eklenmesi sonucu oluşan kimyasal ve duyuşal özelliklerin değişimi incelenmiştir. Siyabo peynirlerin kuru madde, yağ ve protein oranlarını azaltarak ve titrasyon asitliğini ise yükseltmiştir. Ayrıca bitkinin peynirin olgunlaşma indeksini arttırdığı tespit edilmiştir. Protein olmayan azot ve amino azot oranları ile lipoliz düzeylerine etkisi ise düşük olmuştur. Siyabo bitkisi peynirlerin renk ve görünüş değerlerini düşürmüş ancak yapı ve tekstür ile tat ve aroma değerlerini ise yükselttiği tespit edilmiştir [103].

2014 yılında yapılan bir diğer çalışmada, Van İli ve çevresinde geleneksel olarak üretilen otlu peynir üretiminde en çok kullanılan yabancı otlardan *Allium schoenoprasum* L. (Sirmo), *Anthriscus nemorosa* (Bieb.) (Mendi), *Silene vulgaris* (Siyabo), Yabancı Nane (*Mentha spicata* L. subsp. *spicata*) ve Heliz (*Ferula orientalis* L. (Apiaceae) otlarının aroma bileşimi, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile bazı kimyasal özellikleri incelenmiştir. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi değerlendirilmiş, ekstraktlar tarafından Gram (+) bakterilerin büyümesinin etkili bir şekilde engellendiği gözlemlenmiştir. Otların aroma bileşikleri katı fazlı mikro ekstraksiyon gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi tekniği ile analiz edilerek, terpenlerin, bitkilerdeki uçucu maddelerin en fazla temsil edilen kimyasal sınıfları olduğu belirlenmiştir [104].

Literatüre bakıldığında Doğu Anadolu Bölgesinde oldukça popüler olan yöresel isimleri ile Siyabo ve Mende olarak bilinen bu çalışmada da yer verilen bitkiler ile ilgili bazı

Çalışmaların yapıldığı gözlenmektedir, ancak bu çalışmanın yapılma amacı, kullanılan bitkilerin cinsleri, kullanılan bitki materyallerinin yetiştiğı coğrafi alanlar ve ekstraksiyon yöntemleri gibi nedenlerle diğerk çalışmalardan özgün ve elde edilen sonuçları açısından da bir o kadar önemlidir. Bununla birlikte, literatüre bakıldığında Hakkari ilinde *Diplotaenia* sp. (Siyabo), *Chaerophyllum* sp. (Mende) ve *Arum* sp. (Kari) bitkileriyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bağlamda, bu çalışmada ilk kez Hakkari ve çevresinde yayılış gösteren *Diplotaenia* sp. (Siyabo), *Chaerophyllum* sp. (Mende) ve *Arum* sp. (Kari) bitkilerinin etken madde ekstraksiyonu ve ardından antimikrobiyal, antioksidan ve toplam fenolik bileşen analizleri yapılmıştır.

Bu çalışmada, ekstraksiyon çalışmalarında özellikle aşamalı ekstraksiyon kullanılmış ve yüksek biyolojik aktiviteleri sebebi ile fenolik bileşenlerin ve yağimsı maddelerin eldesi amacıyla öncelikli çözücü olarak hekzana yer verilmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda, bitkilerin yüzde verimliliğı sırasıyla *Arum* sp., *Diplotaenia* sp. ve *Chaerophyllum* sp. olarak tespit edilmiştir. Bitkilerin ekstrakt verim yüksekliğı ise sırasıyla etanol, hekzan ve aseton şeklinde olduğı tespit edilmiştir.

Ekstrakt verimi ile orantılı olarak, *Diplotaenia* sp. bitkisinin etanol ekstraktı çalışmada kullanılan tüm testmikroorganizmalarına karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *Diplotaenia* sp. bitkisinin aseton ekstraktı *P. vulgaris* dışındaki tüm mikroorganizmalara karşı yüksek, *P. vulgaris*'e nispeten düşük antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bitkinin hekzan ekstraktlarına bakıldığında ise *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *S. typhimirium*, *Y. pseudotuberculosis*, *P. aeruginosa*, *E. cloaceae*, *S. epidermidis* ve *C. albicans*'a karşı yüksek antimikrobiyal aktivite görölmektedir. *Chaerophyllum* sp. bitkisinin her ekstraktı *S. typhimirium*, *Y. pseudotuberculosis*, *K. pneumoniae* ve *C. albicans*'a karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Bu mikroorganizmalara ek olarak *Chaerophyllum* sp. bitkisinin etanol ekstraktı *E. faecalis*, *L. monocytogenes*, *S. epidermidis* ve *S. aureus*'a; aseton ekstraktı *E. faecalis* ve *B. subtilis*'e; hekzan ekstraktı ise *E. coli* ve *E. cloaceae*'ye karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *Chaerophyllum* sp. hekzan ekstraktı *E. faecalis*, *L. monocytogenes* ve *C. albicans*'a, etanol ekstraktı ise *P. aeruginosa* ve *E. cloaceae*'e karşı düşük antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bitkinin hekzan ekstraktında *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *S. aureus* ve *B. subtilis*'e; etanol ekstraktında *E. coli*, *P. vulgaris* ve *B. subtilis*'e; aseton ekstraktında ise *E. coli*, *P. vulgaris*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *S. aureus* ve *E. cloaceae*'e karşı nispeten düşük

inhibisyon zonları görülmüştür. *Arum* sp. bitki ekstraktları zonlarını *K. pneumoniae*, *Y. pseudotuberculosis*, *S. epidermidis* ve *C. albicans*'a karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bunu ek olarak hekzan ekstraktı *E. cloaceae*, *S. typhimurium*, *S. epidermidis*, *P. vulgaris*, *Y. pseudotuberculosis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* ve *C. albicans*'a karşı, bitkinin etanol ve aseton ekstraktlarının ise *E. coli* dışında test mikroorganizmalarının tamamına karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Bu çalışmada analiz edilen üç bitkiyede bakıldığında etanol ekstraktları en yüksek antimikrobiyal aktivite sonucunu verdiği tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra aseton ve hekzan ekstraktları da çalışmada kullanılan birçok mikroorganizmaya karşı yüksek ve iyi antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu bilgiler ışığında üç bitki türünde iyi birer antimikrobiyal kaynak olduğu görülmektedir.

Daha önce yapılan çalışmalar kıyaslandığında Hakkari ilinde *Diplotaenia* sp. (Siyabo), *Chaerophyllum* sp. (Mende) ve *Arum* sp. (Kari) bitkileriyle ilgili çalışma yapılmadığı, ancak [102]'deki çalışmada olduğu gibi *Chaerophyllum crinitum* Boiss. (Mendo) ve *Ferula rigidula* DC. (Siyabu) ile yapılan çalışma ile sonuçlar kısmen kıyaslandığında Siyabu ve Mendo'nun dietil eter ekstraktlarının değerlendirilmesinde Siyabu'da oldukça zayıf inhibitör aktivite görülmüştür. [103]'de verilen çalışmada Van ilinde *Ferrula* sp. (Siyabo) bitkisinin otlu peynir üzerindeki kimyasal ve duyuşsal etkileri incelenmiştir. [104]'de ise Van ilinde *Anthriscus nemorosa* (Bieb.) (Mendi) ve Siyabo (*Silene vulgaris* (Moench) Garcke var.) bitkileri ile ABTS ve DPPH radikal giderme aktiviteleri, toplam fenolik madde miktarı analizi ve antimikrobiyal aktivite analizi yapılmıştır. Bu çalışmada Mendi otunun farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstraktları Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etkiye sahipken, Gram negatif bakteriler ile maya gelişimine karşı antimikrobiyal etkisi olmadığı saptanmıştır. Siyabo otunun farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstraktları ise Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etkinliği bulunurken, *Enterobacter* hariç olmak üzere Gram negatif bakterilere karşı bu etki bulunmamıştır.

Mevcut çalışmalar; çalışmanın amaçları, ekstraksiyon yöntemleri, kullanılan bitki materyallerinin cinsleri, bitkilerin elde edildiği coğrafik alanlar gibi birçok etken açısından bu çalışma ile büyük farklılık göstermekte, sonuçlar açısından da yapılan bu tez kapsamında diğerlerinin aksine yöresel ismi ile siyabo olarak bilinen bitkinin oldukça geniş bir aktivite spektrumu ve yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu

tespit edilmiştir, diğer çalışmalarla benzerlikleri halk arasında bitkilere verilen isimlerin aynı olmasından ileriye gitmemektedir.

Çalışmamızda *Diplotaenia* sp. (Siyabo), *Chaerophyllum* sp. (Mende) ve *Arum* sp. (Kari) bitkilerinin antioksidan aktivite analizleri, DPPH radikal giderme aktivitesi ve ABTS radikal giderme aktivitesi analizlerine göre yapılmış, DPPH analizi için BHA, ABTS analizi için Troloks standart alınmıştır. Her iki analiz sonuçları değerlendirildiğinde *Diplotaenia* sp. bitkisinin etanol ve aseton ekstraktlarının radikal giderme aktivitelerinin yüksek olduğu görülmektedir. ABTS radikal giderme aktivitelerine bakıldığında bitki ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri troloksa göre etanol> aseton> hekzan şeklinde olsada DPPH radikal giderme aktivitesi için bu durumda istikrarlı bir sıralama yoktur. Her iki analiz sonuçları değerlendirildiğinde Siyabo'nun etanol ekstraktının en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ikinci sırayı ise yine Siyabo'nun aseton ekstraktının aldığı görülmektedir. En düşük antioksidan aktiviteye ise Mende'nin hekzan ekstraktının sahip olduğu tespit edilmiştir. Diğer bitki ekstraktlarının ise iyi derecede antioksidan aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu bilgiler ışığında üç bitki türünde iyi birer antioksidan özellik gösterdiği görülmektedir.

Toplam fenolik bileşen içeriği en yüksek olan madde *Diplotaenia* sp. bitkisinin etanol ekstraktı olduğu tespit edilmiştir. Bu durum maddenin antioksidan aktivite ve antimikrobiyal aktivite sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Bitkilere genel olarak bakıldığında fenolik bileşen miktarlarının en çok *Diplotaenia* sp. bitkisinde görülürken en az *Chaerophyllum* sp. bitkisinde bulunduğu tespit edilmiştir.

Literatüre bakıldığında 2013 yılında Van ilinde yapılan çalışmada benzer bir antioksidan aktivite ve toplam fenolik bileşen analiz çalışmasına rastlanılmaktadır. Ancak mevcut çalışmada çalışılan bitki türlerinin farklı olduğu, ekstraksiyon yönteminin farklı olduğu ve yalnızca yöresel isimlerinin benzer olduğu tespit edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Hakkari ilinde varolan ve halk arasında Kari (*Arum* sp.), Siyabo, (*Diplotaenia* sp.) ve Mende (*Chaerophyllum* sp.) ve olarak bilinen bazı bitkilerin biyolojik özellikleri incelenmiştir.

Yapılan antimikrobiyal ve antioksidan aktivite analizlerinde ve toplam fenolik bileşen içeriklerinin belirlenmesinde elde edilen sonuçlar, test edilen bitkilerin halk arasında beslenme ve tedavilerde kullanılmasını destekler niteliktedir.

Çalışmada bitkilerin fenolik bileşen içerikleri ile antioksidan aktivite sonuçları orantılıdır ve bu durum fenolik bileşen miktarının antioksidan aktiviteyi doğrudan etkilediği görüşünü desteklemektedir.

Daha sonra yapılacak çalışmalarla, bitkilerin biyolojik aktivite göstermelerine neden olan bileşikler çeşitli yöntemlerle izole edilebilir.



6. KAYNAKLAR

- [1] P. İli, "Bazı tıbbi bitkilerin kimyasal içerikleri ve hayvanlara etkileri", Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye, 2003.
- [2] H. Yuan, Q. Ma, L. Ye and G. Piao, "The traditional medicine and modern medicine from natural products," *Molecules*, vol. 21, no. 559, pp. 1-18, 2016.
- [3] S. NCC and F. Junior A, "Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity," *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, vol. 16, no. 3, pp. 402–413, 2010.
- [4] S. Hosseinzadeh, A. Jafarikukhdan, A. Hosseini and R. Armand, "The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*," *International Journal of Clinical Medicine*, vol. 6, pp. 635–642, 2015.
- [5] K. S. Dogra, S. Chauhan and J. S. Jalal, "Assessment of Indian medicinal plants for the treatment of asthma," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 9, no. 32, pp. 851–862, 2015.
- [6] M. A. Sonibare and R. B. Abegunde, "Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Laniba village people in South Western Nigeria," *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 6, no. 24, pp. 1726–1732, 2012.
- [7] R. Polat, U. Cakılcıoğlu, F. Ertug ve F. Satıl, "An evaluation of ethnobotanical studies in Eastern Anatolia," *Biological Diversity and Conservation*, vol. 5, no. 2, pp. 23-40, 2012.
- [8] Q. Majaz A. and M. Khurshid I., "Herbal medicine: a comprehensive review," *International Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 8, no. 2, pp. 1–5, 2016.
- [9] İ. Berber, C. Avşar, N. Çine, N. Bozkurt ve E. Elmas "Sinop'da yetişen bazı bitkilerin metanolik ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal aktivitelerinin belirlenmesi," *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, c. 3, s. 1, ss. 10–16, 2013.
- [10] M. Lahlou, "The success of natural products in drug discovery," *Pharmacology and Pharmacy*, vol. 4, pp. 17–31, 2013.
- [11] D. Gupta, J. Dubey and M. Kumar, "Phytochemical analysis and antimicrobial activity of some medicinal plants against selected common human pathogenic microorganisms," *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, vol. 6, no. 1, pp. 15–20, 2016.
- [12] T. Gamse, "Extraction- liquid liquid extraction- solid liquid extraction- high pressure extraction," *Graz University of Technology*, Austria, Rep.

- [13] S. S. Handa, "An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants," *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, 1st edition, Trieste, in Italy: International Centre for Science and High Technology, 2008, Ch. 1, pp. 21-52.
- [14] N. N. Azwanida, "A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation," *Medicinal & Aromatic Plants*, vol. 4, no. 3, pp. 3–8, 2015.
- [15] S. N. H. M. Azmin, Z. A. Manan, S. R. W. Alwi, L.S. Chua, A. A. Mustaffa and N. A. Yunus, "Herbal processing and extraction technologies," *Separation and Purification Reviews*, vol. 45, no. 4, pp. 305-320, 2016.
- [16] S. Toroğlu ve M. Çenet, "Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar," *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, c. 9, s. 2, ss. 12–20, 2006.
- [17] K. Das, R. K. S. Tiwari and D. K. Shrivastava, "Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: Current methods and future trends," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 4, no. 2, pp. 104–111, 2010.
- [18] S. K. Panda, "Screening methods in the study of antimicrobial properties of medicinal plants," *International Journal of Biotechnology and Research (IJBTR)*, vol. 2, no. 1, pp. 1–35, 2012.
- [19] M. Balouiri, M. Sadiki and S. K. Ibnsouda, "Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review," *Journal of Pharmaceutical Analysis*, vol. 6, pp. 71–79, 2016.
- [20] J. H. Jorgensen and M. J. Ferraro, "Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices," *Clinical Infectious Diseases*, vol. 49, pp. 1749–1755, 2009.
- [21] B. Bonev, J. Hooper and J. Parisot, "Principles of assessing bacterial Susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 61, pp. 1295–1301, 2008.
- [22] M. E. Rondon, J. Velasco, X. Cornejo, J. Fernandez and V. Morocho, "Chemical composition and antibacterial activity of *Piper lenticellosum* C.D.C essential oil collected in Ecuador," *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, vol. 6, no. 08, pp. 156–159, 2016.
- [23] B. Saleh and A. Al-Mariri, "Antimicrobial activity of leaf and flowering cones of *Abies cilicica* ssp. *cilicica* (Pinaceae) crude extracts," *Herba Polonica*, vol. 62, no. 1, pp. 55–65, 2016.
- [24] A. Bibi, A. Thangamani and V. Venkatesalu, "Some endemic medicinal plants of Andamans with antimicrobial potential," *Journal of Applied and Advanced Research*, vol. 1, no. 1, 2016.

- [25] G. A. Buli, A. Gure and E. Dessalegn, "Antimicrobial activity of *Taverniera Abyssinica* A .Rich against human pathogenic bacteria and fungi," *African Journal of Microbiology Research*, vol. 9, no. 50, pp. 2385-2390, 2015.
- [26] F. Benbelaid, A. Khadir, M. Bendahou, F. Zenati, C. Bellahsene, A. Muselli and J. Costa," Antimicrobial activity of *Rosmarinus eriocalyx* essential oil and polyphenols: An endemic medicinal plant from Algeria," *Journal of Coastal Life Medicine*, vol. 4, no. 1, pp. 39–44, 2016.
- [27] S. Karakaya, G. Göger, C. S. Kılıc and B. Demirci, "Composition of volatile oil of the Aerial Parts, flowers and roots of *Ferulago blanchena* post. (Apiaceae) growing in Turkey and determination of their antimicrobial activities by bioautography method," *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, no. 2, pp. 173-180, 2016.
- [28] D.T. Erkan ve B. Dülger, "*Stachys thirkei* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi üzerine araştırmalar," *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, c. 4, ss. 886-893, 2016.
- [29] C. Avsar, H. Keskin ve I. Berber, "Antimicrobial activity of some plant extracts against microorganisms isolated from hospital infections," *International Journal of Pure Applied Sciences*, vol. 2, no. 1, pp. 22–29, 2016.
- [30] A. Ertas, M. Boga, I. Gazioglu, Y. Yesil, N. Hasimi, C. Ozaslan, H. Yilmaz and M. Kaplan, "Fatty acid, essential oil and phenolic compositions of *Alcea pallida* and *Alcea apterocarpa* with antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities," *Chiang Mai Journal of Science*, vol. 43, no. X, pp. 1143-1153, 2016.
- [31] A. Marino, G. Zengin, A. Nostro, G. Ginestra, P. Dugo, F. Cacciola, N. Miceli, M. F. Taviano, A. Filocamo, G. Bisignano and A. Aktumsek, "Antimicrobial activities, toxicity and phenolic composition of *Asphodeline anatolica* E. Tuzlaci leaf extracts from Turkey," *Natural Product Research*, 2015.
- [32] S. B. Nimse and D. Pal, "Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms," *RSC Advances*, vol. 5, pp. 27986–28006, 2015.
- [33] S. Partap and S. Pandey, "A review on herbal antioxidants," *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 1, no. 4, pp. 26-37, 2012.
- [34] J.-K. Li, X.-D. Liu, L. Shen, W.-M. Zeng and G.-Z. Qiu, "Natural plant polyphenols for alleviating oxidative damage in man: Current status and future perspectives," *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 15, no. 5, pp. 1089–1098, 2016.
- [35] S. Panchawat, K. S. Rathore and S. S. Sisodia, "A review on herbal antioxidants," *International Journal of PharmTech Research*, vol. 2, no. 1, pp. 232–239, 2010.

- [36] A. A. Lone, S. A. Ganai, R. A. Ahanger, H. A. Bhat, T. A. Bhat and I. A. Wani, "Free radicals and antioxidants: Myths, facts and mysteries," *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, vol. 7, no. 3, pp. 91–113, 2013.
- [37] M. Gutowski and S. Kowalczyk, "A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance," *Acta Biochimica Polonica*, vol. 60, no. 1, pp. 1-16, 2013.
- [38] Ozougwu and J. C. P. D, "The role of reactive oxygen species and antioxidants in oxidative stress," *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*, vol. 3, no. 6, pp. 1–8, 2016.
- [39] M. V. Urquiza-Martínez and B. F. Navarro, "Antioxidant capacity of food," *Free Radicals Antioxidants*, vol. 6, no. 1, pp. 1–12, 2016.
- [40] S. Ahmad, M. A. Arshad, S. Ijaz, U. Khurshid, F. Rashid and R. Azam, "Review on methods used to determine antioxidant activity," *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*, vol. 1, no. 1, pp. 35–40, 2014.
- [41] M. I. Waly and N. Guizani, "Health aspects of antioxidant nutrients : A consice update open access journal of agricultural research," *Open Access Journal of Agricultural Research*, vol. 1, no. 1, pp. 2474-8846, 2016.
- [42] M. Skiba, A. Pedrycz and B. Cichacz, "Reactive oxygen radicals – The therapeutic effectiveness of antioxidants," *Polish Hyperbaric Research*, vol. 1, no. 54, pp. 41-48, 2016.
- [43] A. Jimenez-Zamora, C. Delgado-Andrade and J. A. Rufian-Henares, "Antioxidant capacity, total phenols and color profile during the storage of selected plants used for infusion," *Food Chemistry.*, vol. 199, pp. 339–346, 2016.
- [44] J. Arauz, E. Ramos-Tovar and P. Muriel, "Redox state and methods to evaluate oxidative stress in liver damage: From bench to bedside," *Annals of Hepatoogy*, vol. 15, no. 2, pp. 160–173, 2016.
- [45] A. Khettaf, N. Belloula and S. Dridi, "Antioxidant activity, phenolic and Flavonoid contents of some wild medicinal plants in southeastern Algeria," *African Journal of Biotechnology*, vol. 15, no. 13, pp. 524–530, 2016.
- [46] M. Kazazic, M. Djapo and E. Ademovic, "Antioxidant activity of water extracts of some medicinal plants from Herzegovina region," *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, vol. 4, no. 2, pp. 85–90, 2016.
- [47] G. Ozkan, S. Kamiloglu, T. Ozdal, D. Boyacioglu and E. Capanoglu, "Potential use of Turkish medicinal plants in the treatment of various diseases," *Molecules*, vol. 21, no. 257, pp. 1–32, 2016.
- [48] C. Jayathilake, V. Rizliya and R. Liyanage, "Antioxidant and free radical scavenging capacity of extensively used medicinal plants in Sri Lanka," *Procedia Food Science*, vol. 6, pp. 123–126, 2016.

- [49] R. Apak, S. Gorinstein, V. Böhm, K. M. Schaich, M. Ozyürek and K. Güclü, "Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report)," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 85, no. 5, pp. 957–998, 2013.
- [50] A. Karadag, B. Ozcelik and S. Saner, "Review of methods to determine antioxidant capacities," *Food Analytical Methods*, vol. 2, pp. 41–60, 2009.
- [51] D. Gupta, "Methods for determination of antioxidant capacity: A review," *International Journal of Pharmaceutical Sciences Research*, vol. 6, no. 2, pp. 546–566, 2015.
- [52] H.A. Moharram and M. M. Youssef, "Methods for determining the antioxidant activity : A review," *Alexandria Journal of Food Science & Technology*, vol. 11, no. 1, pp. 31-42, 2014.
- [53] R. L. Prior, X. Wu and K. Schaich, "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 10, pp. 4290–4302, 2005.
- [54] R. Yavaşer, "Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması," Yüksek Lisans Tezi, Kimya Bölümü, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, Türkiye, 2011.
- [55] G. Marinova and V. Batchvarov, "Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH," *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, vol. 17, no. 1, pp. 11–24, 2011.
- [56] T. C. Shekhar and G. Anju, "Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of *Ageratum conyzoides* Linn. leaves," *American Journal of Ethnomedicine*, vol. 1, no. 4, pp. 244–249, 2014.
- [57] G. Alagumanivasagam, R. Pasupathy, A. Kottaimuthu and R. Manavalan, "A review on *in-vitro* antioxidant methods," *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, vol. 1, no. 2, pp. 662–674, 2012.
- [58] S. de Oliveira, G. A. de Souza, C. R. Eckert, T. A. Silva, E. S. Sobral, O. A. Favero, M. J. P. Ferreira, P. Romoff and W. J. Baader, "Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts," *Quimica Nova*, vol. 37, no. 3, 2014.
- [59] D. Chandrasekar, K. Madhusudhana, S. Ramakrishna and P. V. Diwan, "Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: A sensitive screening method for polyherbal formulations," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 40, pp. 460–464, 2006.
- [60] A. V. Badarinath, K. M. Rao, C. M. S. Chetty, S. Ramkanth, T. V. S. Rajan and K. Gnanaprakash, "A review on *in-vitro* antioxidant methods: Comparisons, correlations and considerations," *International Journal of PharmTech Research*, vol. 2, no. 2, pp. 1276–1285, 2010.

- [61] M. S. Khyade, S. P. Kamble, M. B. Waman, A. D. Padwal and S. D. Jadhav, "Chemical profiling and free radical scavenging potential of *Oxalis corniculata*," *The Explorer*, vol. 1, no. 1, pp. 88-93, 2016.
- [62] M. N. Alam, N. J. Bristi and M. Rafiquzzaman, "Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 21, pp. 143–152, 2013.
- [63] S. C. Gouveia-Figueira, C. A. Gouveia, M. J. Carvalho, A. I. Rodrigues, M. L. Nording and P. C. Castilho, "Antioxidant capacity, cytotoxicity and antimycobacterial activity of madeira archipelago endemic *Helichrysum* dietary and medicinal plants," *Antioxidants*, vol. 3, pp. 713–729, 2014.
- [64] S. Kalpana, D. Vijai and S. Premalatha, "Antioxidant activity of different solvent extracts of *Barleria longiflora* Linn," *International Journal of Current Research In Biology and Medicine*, vol. 1, no. 5, pp. 1–8, 2016.
- [65] J. Infante, P. L. Rosalen, J. G. Lazarini, M. Franchin and S. M. De Alencar, "Antioxidant and anti-inflammatory activities of unexplored Brazilian native fruits," *Plos One*, vol. 11, no. 4, pp. 1-13, 2016.
- [66] M. C. Scur, F. G. S. Pinto, J. A. Pandini, W. F. Costa, C. W. Leite and L. G. Temponi, "Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and different plant extracts of *Psidium cattleianum* Sabine," *Brazilian Journal of Biology*, vol. 76, no. 1, pp. 101–108, 2016.
- [67] A. D. A. Uchoa, W. F. Oliveira, A. P. C. Pereira, A. G. Silva, B. M. P. C. Cordeiro, C. B. Malafaia, C. M. A. Almeida, N. H. Silva, J. F. C. Albuquerque, M. V. Silva and M. T. S. Correia, "Antioxidant activity and phytochemical profile of *Spondias tuberosa* Arruda leaves extracts," *American Journal of Plant Sciences*, vol. 6, pp. 3038–3044, 2015.
- [68] C. Aydın, C. Ozay and R. Mammadov, "Antioxidant and antibacterial activities of two endemic *Allium* L. taxa from Turkey," *International Journal of Chemical, Environmental & Biological Sciences*, vol. 3, no. 1, pp. 2320-4087, 2015.
- [69] A. Karagöz, F. T. Artun, G. Ozcan, G. Melikoglu, S. Anıl, S. Kultur and N. Sutlupınar, "In vitro evaluation of antioxidant activity of some plant methanol extracts," *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, vol. 29, no. 6, pp. 1184–1189, 2015.
- [70] H. Heydari, G. Saltan, O. Bahadır Acıkara, S. Yılmaz, T. Coban and M. Tekin "Short communication antioxidant activity of five *Lathyrus* L. species growing in Turkey," *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 12, no. 3, pp. 369–376, 2015.
- [71] H. Tohma, E. Köksal, O. Kılıc, Y. Alan, M. A. Yılmaz, I. Gulcin, E. Bursal and S. H. Alwasel, "RP-HPLC/MS/MS analysis of the phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial activities of *Salvia* L. Species," *Antioxidants*, vol. 5, no. 38, pp. 1–15, 2016.

- [72] S. Alp, S. Ercişli, H. Dogan, E. Temim, A. Leto, M. Zia-Ul-Haq, A. Hadziabulic and H. Aladag "Chemical composition and antioxidant activity *Ziziphora clinopodioides* ecotypes from Turkey," *Romanian Biotechnological Letters*, vol. 21, no. 2, pp. 11298–11303, 2016.
- [73] C. Sanchez, "Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms," *Synthetic and Systems Biotechnology*, vol. 2, no. 1, pp. 13-22, 2016,
- [74] M.O. Agbo, P. F. Uzor, U. N. Akazie-Nneji, C. U. Eze-Odurukwe, U. B. Ogbatue and E. C. Mbaaji, "Antioxidant, total phenolic and flavonoid content of selected Nigerian medicinal plants," *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 14, no. 1, pp. 00-00, 2015.
- [75] S. Nourian, A. M. Sani, E. Golmakani, P. Feizi and K. Roghani, "Determination of antioxidant activity by high performance liquid chromatography, phenolic and flavonoid contents of *Vincetoxicum nigrum*," *International Journal of PharmTech Research*, vol. 9, no. 3, pp. 150–157, 2016.
- [76] N. K. Jain and N. Bhagia, "Acomparative study of total phenolic, total flavanoid and antioxidant assays of aqueous and DMSO extract from leaves of *Origanum Vulgare*," *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 5, no. 1, pp. 726–737, 2015.
- [77] A.A. and J. R., "Total phenolic content and antioxidant activity in *Nypa Fruticans* extracts," *Journal of Sustainability Science and Management*, vol. 10, no. 1, pp. 87–91, 2015.
- [78] M. Karker, H. Falleh, K. Msaada, A. Smaoui, C. Abdelly, J. Legault and R. Ksouri, "Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of the medicinal halophyte *Reaumuria vermiculata*," *EXCLI Journal*, vol. 15, pp. 297-307, 2016.
- [79] B. Amos-Tautua, O. Ajileye, S. Ndoni, F. Bamidele and A. Onigbinde, "Evaluation of phenolic contents, free radical scavenging activity and functional group analysis of the leaf extract of a medicinal plant in Niger Delta region," *International Scientific Organization*, vol. 3, no. 3, pp. 250–257, 2017.
- [80] P. Yadav and N. Malpathak, "Estimation of antioxidant activity and total phenol, flavonoid content among natural populations of Caper (*Capparis moonii*, wight) from Western Ghats region," *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, vol. 50, no. 3, pp. 495–501, 2016.
- [81] S. Gunawardana, K. Eberhart, K. Hartman and F.T. Halaweish, "Assessment of chemopreventive contents of Native American Juneberries (*Amelanchier alnifolia* (Nutt.) Nutt. ex M. Roem.)," *The Open Pharmaceutical Crops Journal*, vol. 10, pp. 3–11, 2016.

- [82] C. Aydın, G. T. Ozcan, M. Turan and R. Mammadov, "Phenolic contents and antioxidant properties of *Echinops ritro* L. and *E. tournefortii* Jaup. Et. Spach extract," *International Journal of Secondary Metabolite*, vol. 3, no. 2, pp. 74–81, 2016.
- [83] İ. Uce ve M. Tunçtürk, "Hakkari'de doğal olarak yetişen ve yaygın olarak kullanılan bazı yabancı bitkiler," *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, c.7, s. 2, ss. 21-25, 2014.
- [84] A. Sen and A. Batra, "Evaluation of antimicrobial activity of different solvent extracts of medicinal plant: *Melia Azedarach* L.," *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, vol. 4, no. 2, pp. 67–73, 2012.
- [85] D. Rimek, B. Fehse and P. Göpel, "Evaluation of Mueller-Hinton-agar as a simple medium for the germ tube production of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*," *Mycoses*, vol. 51, no. 3, pp. 205-8, 2008.
- [86] D. Ayvaz Bektaş, "Doğu Karadeniz Bölgesinde yetişen bazı bitki türlerinin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi," Yüksek Lisans Tezi, Kimya Bölümü, Giresun Üniversitesi, Giresun, Türkiye, 2013.
- [87] H. Öztürk, "*Jurinea consanguinea*'nın antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi," Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü, Trakya Üniversitesi, Edirne, Türkiye, 2009.
- [88] M. Bukhari. (2004, 27 September). *Student Presentation on staphylococcus epidermidis*. [Online]. Available: <http://web.uconn.edu/mcbstaff/graf/Student%20presentations/S%20epidermidis/sepidermidis.html>.
- [89] R. Laukkanen-Ninios, X. Didelot, K. A. Jolley, G. Morelli, V. Sangal, P. Kristo, Ca. Brehony, P. F. M. Imori, H. Fukushima, A. Siitonen, G. Tseneva, E. Voskressenskaya, J. P. Falcao, H. Korkeala, M. C. J. Maiden, C. Mazzoni, E. Carniel, M. Skurnik and M. Achtman, "Population structure of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex according to multilocus sequence typing," *Environmental Microbiology*, vol. 13, no. 12, pp (3114-27), 2011.
- [90] Y. Haryani, R. Tunung, L. C. Chai, H. Y. Lee, S. Y. Tang and R. Son, "Characterization of *Enterobacter cloacae* isolated from street foods," *ASEAN Food Journal*, vol. 15, no. 1, pp. (57-64), 2008.
- [91] F.L. Mayer, D. Wilson and B. Hube, "*Candida albicans* pathogenicity mechanisms," *Virulence*, vol. 4, no. 2, pp. (119-128), 2013.
- [92] Y. Baravalia, M. Kaneria, Y. Vaghasly, J. Parekh, and S. Chanda, "Antioxidant and antibacterial activity of *Diospyros ebenum* roxb. leaf extracts," *Turkish Journal of Biology*, vol. 33, pp. 159–164, 2009.

- [93] C.P. Anokwuru, G.N. Anyasor, O. Ajibaye, O. Fakoya and P. Okebugwu, "Effect of extraction solvents on phenolic, flavonoid and antioxidant activities of three Nigerian medicinal plants," *Nature and Science*, vol. 9, no. 7, pp. 53–61, 2011.
- [94] K.T Chung, W.R Thomasson and CD Wu-Yuan, "Growth inhibition of selected food-borne bacteria, particularly *Listeria monocytogenes*, by plant extracts" *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 69, no. 4, pp. 498- 503, 1990.
- [95] B. B. Sokmen, S. Ugras, H. Y. Sarikaya, H. I. Ugras and R. Yanardag, "Antibacterial, antiurease and antioxidant activities of some *Arylidene barbiturates*," *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 171, pp. 2030–2039, 2013.
- [96] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier and C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, vol. 28, pp. 25–30, 1995.
- [97] S. Kahraman, "Labada (*Rumex cristatus* DC)'nın antioksidan aktivitesi," Doktora Tezi, Kimya Bölümü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2009.
- [98] O. T. Okan, H. Varlıbaş, M. Öz ve İ. Deniz, "Antioksidan analiz yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecek odun dışı bazı bitkisel ürünler," *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, c.13, s.1, ss. 48-59, 2013.
- [99] M. M. Döğer, "İspit'in (*Trachystemon orientalis* (L.) G. Don) antioksidan aktivitesi," Doktora Tezi, Kimya Bölümü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2010.
- [100] B. A. R. Hassan, "Medicinal plants (importance and uses)," *Pharmaceutica Analytica Acta*, vol. 3, no. 10, p. 4172, 2012.
- [101] E. Altundağ. (2012, 29 Haziran). *Doğu Anadolu'daki Tıbbi Bitkilerin Kullanımı*. [Online]. Erişim: <http://ztbb.org/festival/dogu-anadoludaki-tibbi-bitkilerin-kullanimi/>.
- [102] S. Agaoglu, N. Dostbil and S. Alemdar, "The antibacterial efficiency of some herbs used in herby cheese," *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, vol. 16, no. 2, pp. 39–41, 2005.
- [103] Z. Tarakçı, H. Durmaz ve E. Sağun, "Siyabonun (*Ferula* sp.) otlu peynirin olgunlaşması üzerine etkisi," *Tarım Bilimleri Dergisi*, c. 15, s. 1, ss. 53–56, 2005.
- [104] S. Dagdelen, T. Bilenler, G. Durmaz, I. Gokbulut, A.A. Hayaloglu and I. Karabulut, "Volatile composition, antioxidant and antimicrobial activities of herbal plants used in the manufacture of Van herby (otlu) cheese," *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 38, no. 4, pp. 1716-1725, 2014.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Sultan Ülger
Doğum Tarihi ve Yeri : 20. 01. 1991- Ankara
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : sultanulgr@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya	Düzce Üniversitesi	2017
Lisans	Kimya	Düzce Üniversitesi	2015
Lise	Matematik-Fen	Keçiören Lisesi	2009